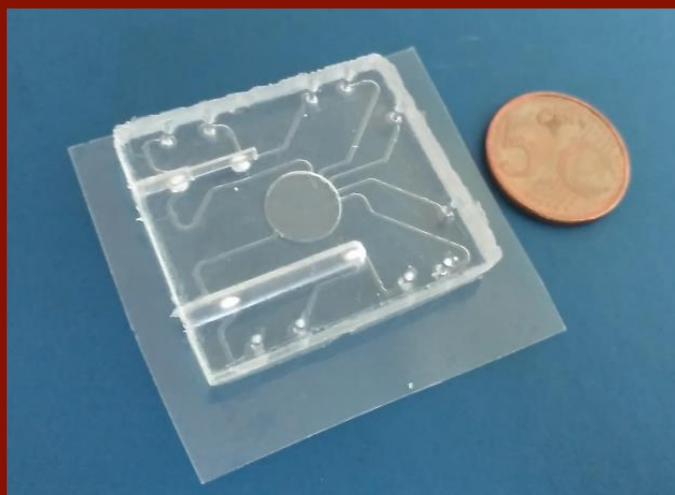


Tesis Doctoral
Ingeniería Electrónica

Microlab-en-Chip para Producción de Radiofármacos para Diagnóstico PET



Autor: Blas Salvador Domínguez
**Directores: Antonio Luque Estepa y José
Manuel Quero Reboul**

Ingeniería Electrónica
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2019



Tesis Doctoral
Ingeniería Electrónica

Microlab-en-Chip para Producción de Radiofármacos para
Diagnóstico PET

Autor:

Blas Salvador Domínguez

Directores:

Antonio Luque Estepa y José Manuel Quero Reboul

Profesor Titular y Catedrático de Universidad

Ingeniería Electrónica
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

2019

Tesis Doctoral: Microlab-en-Chip para Producción de Radiofármacos para Diagnóstico PET

Autor: Blas Salvador Domínguez

Director: Antonio Luque Estepa y José Manuel Quero Reboul

El tribunal nombrado para juzgar la Tesis arriba indicada, compuesto por los siguientes doctores:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

acuerdan otorgarle la calificación de:

El Secretario del Tribunal

Fecha:

A Irene
A Óscar

Agradecimientos

La realización de una tesis de esta complejidad y magnitud es imposible sin contar con la ayuda y el apoyo de un gran número de personas. En estas líneas me gustaría expresar mi agradecimiento a todos aquellos que de una manera u otra han formado parte de este trabajo.

Quiero empezar agradeciendo todo su apoyo durante estos años a mi amiga y mi compañera en la vida. Siempre has estado a mi lado para darme ánimos en el momento en que más lo necesitaba. Sin tu cariño jamás lo habría logrado, gracias por estar siempre ahí Irene. También quiero agradecer al que, aunque ha llegado en el último momento, ha supuesto el empujón que necesitaba para poder terminar. Este trabajo también va por ti Óscar.

También quiero dar las gracias a mi familia y amigos. En especial a mis padres, ellos siempre me animaron a estudiar y me han apoyado en todas mis decisiones, aconsejándome y animándome.

Me gustaría agradecer también a las compañeras del Centro Nacional de Aceleradores. Laura, Ari, Diana e Isabel, sin vosotras no hubiese podido conseguir estos resultados, mil gracias por vuestro tiempo.

No quiero olvidarme de todos los becarios que han ayudado en la investigación. En especial a Iván, a Guille y a Diego. Habéis aportado muchísimo a esta tesis y espero que hayáis aprendido de mí casi tanto como yo de vosotros.

A los compañeros del departamento de Ingeniería Electrónica, especialmente al grupo de Microsistemas. Juan, Carmen, Fran, Guada y Miguel, sois los mejores compañeros que podía tener y siempre habéis estado ahí para darme vuestro apoyo. Quería agradecer especialmente a Fran el haber sido colega de mil batallas en el laboratorio y que siempre haya podido contar con tu ayuda. De todos sé que me llevo más que unos compañeros de trabajo.

Por último, quería dar las gracias a mis dos directores de tesis. A José Manuel, nunca podré agradecerte lo suficiente la oportunidad que me diste de formar parte de esta aventura. A Antonio, sin tus consejos, dedicación y experiencia nunca hubiese conseguido terminar esta tesis.

Resumen

El objetivo de esta tesis es realizar un sistema de síntesis de radiofármacos PET que mejore los actuales procesos de producción y optimizar la eficiencia de los protocolos de generación de dichos radiofármacos. Para llevar a cabo dicho objetivo se han realizado los estudios previos necesarios y las pruebas que confirman el correcto funcionamiento del sistema propuesto.

Tras una introducción, que indica las motivaciones y necesidades que cubre la presente investigación, se ha realizado una revisión de la literatura, en la que se hace una composición de lugar de los sistemas microfluídicos que se emplean para la síntesis de radiofármacos y así se establecen las aportaciones más relevantes del estudio.

Partiendo de este estado del arte, se ha realizado el diseño del dispositivo propuesto que constará de varios módulos principales. Para ello, se parte de la fabricación de los primeros chips que permiten la obtención de un prototipo final que se ha estudiado a fondo. Para conseguir el correcto control sobre los reactivos que intervienen en el proceso se implementa un sistema de control de flujo que emplea válvulas basadas en actuadores lineales y una estructura que permite su alineación. También es necesario para realizar la reacción la incorporación de un sistema que transmita correctamente la temperatura a la cámara y un sistema de extracción de gases. Para reducir el área efectiva del chip y hacer más eficiente el dispositivo se han integrado los módulos de intercambio iónico en el interior del chip. Otra de las aportaciones más importantes es la inclusión de un sensor de radiación SiPM para mejorar la monitorización del proceso.

Se ha realizado un control preciso de todos los módulos que componen el dispositivo y de esta manera se consigue aumentar la eficiencia de este tipo de sistemas. Por ello, se ha llevado a cabo una automatización tanto a nivel hardware como software. También se considera una aportación interesante para la mejora del proceso la integración de un control de flujo de reactivos y un control de temperatura de la cámara de reacción.

Para comprobar el correcto funcionamiento del sistema se han realizado las correspondientes pruebas que permitan validar el dispositivo. Gracias a ello se confirma la eficiencia de los módulos de retención y de purificación integrados en el chip. También se ha evaluado el funcionamiento del módulo de reacción y se ha confirmado que el PDMS es un material

adecuado para la fabricación de este dispositivo. Se demuestra el funcionamiento apropiado del sistema de control y del sensor de radiación. Como pruebas finales, se alcanza el objetivo principal de este estudio, la síntesis del radiofármaco [^{18}F]Fluoromisonidazol ([^{18}F]FMISO) empleando el sistema propuesto en esta tesis.

Finalmente se analizan los resultados más importantes obtenidos en el estudio y se indican las aportaciones más relevantes en el campo de los dispositivos microfluídicos, particularmente en los orientados a la generación de radiofármacos. También se especifican las posibles mejoras del dispositivo propuesto y las futuras líneas de investigación que se plantean en el campo de los microreactores.

Abstract

The objective of this thesis is to create a PET radiopharmaceutical production system that improves current production processes and optimizes the efficiency of radiopharmaceutical generation protocols. To achieve this goal, the necessary previous studies and the tests that confirm the correct functioning of the proposed system have been carried out.

After an introduction, which indicates the motivations and needs covered by this research, it has been reviewed the literature, in which a study of the microfluidic systems used for the synthesis of radiopharmaceuticals is made, and thus, it is possible to establish the most relevant contributions of the study.

Starting from this state of the art, the design of the proposed device that will consist of several modules has been carried out. For this purpose, it begins with the manufacture of the first chips that allow obtaining a final prototype that will be studied thoroughly. To achieve the right control over the reagents involved in the process it will be necessary to implement a flow control system that must use valves based on linear actuators and a structure that allows their alignment. It is also necessary to carry out the reaction to incorporate a system that transmits the temperature to the chamber correctly and a gas extraction system. In order to reduce the effective area of the chip and make the device more efficient, it has been integrated the ion exchange modules inside the chip. Another of the most interesting contributions is the inclusion of a SiPM radiation sensor to improve the monitoring of the process.

It has been carried out an accurate control of all the modules of the device and in this way to increase the efficiency of this type of systems. Therefore, it has been done automation at hardware and software levels. An integration of a reagent flow control and a temperature control of the reaction chamber is also considered an interesting contribution to the improvement of the process.

To verify the suitable functioning of the system, the corresponding tests have been done in order to validate the device. Thanks to that the efficiency of the retention and purification modules integrated in the chip has been confirmed. The reaction module has been also evaluated and it has been confirmed that the PDMS is a suitable material for the manufacture of this device. It has been demonstrated the proper functioning of the control

system and the radiation sensor. As final tests, it reaches out the main target of this study, the synthesis of the [^{18}F]Fluoromisonidazole ([^{18}F]FMISO) radiopharmaceutical by using the system proposed in this thesis.

Finally, the most important results obtained in the study are analyzed and the most relevant contributions in the field of microfluidic devices are described, particularly those aimed at the generation of radiopharmaceuticals. Possible improvements of the proposed device and future lines of research in the field of microreactors have been specified too.

Índice

1	Introducción	1
1.1	Justificación de necesidad	1
1.1.1	Producción de Radiofármacos	3
1.1.2	Ventajas de la Microfluídica	9
1.1.3	Proyecto MICRORAD	10
1.1.4	Grupo de Microsistemas	10
1.2	Objetivos	11
2	Desarrollos Previos	13
2.1	Estado del Arte	13
2.1.1	Sistemas microfluídicos para la síntesis de radiofármacos	13
2.1.2	Módulos de intercambio iónico	28
2.1.3	Sensores de radiación	33
2.1.4	Métodos de transferencia de calor	35
2.1.5	Métodos de mezclado de reactivos	39
2.2	Aportaciones	40
3	Estructura del sistema propuesto	43
3.1	Estructura del circuito microfluídico	43
3.1.1	Primeros modelos	46
3.1.2	Estructura final del circuito microfluídico	50
3.2	Flujo de reactivos	56
3.2.1	Válvulas con solenoides: funcionamiento	57
3.2.2	Alineación de los solenoides. Estructura 3D	60
3.3	Control y transferencia de calor. Sistema de vacío	65
3.3.1	Primeros modelos	65
3.3.2	Dispositivo final. Calentador en PCB flexible y extractor de aluminio	67
3.4	Cámaras de intercambio iónico	70

3.4.1	Primeros modelos	71
3.4.2	Estructura final de las cámaras de intercambio iónico	74
3.5	Monitorización del proceso	77
3.5.1	Sensor SiPM	78
3.6	Sistema integrado	80
4	Control y monitorización	83
4.1	Automatización del proceso	83
4.1.1	Sistema Hardware	84
4.1.2	Sistema Software: Control en LabView	85
	Panel frontal	86
	Modo Automático	88
	Estructura de archivos y diagramas de bloques	89
4.2	Control de flujo de reactivos	93
4.2.1	Control de presión de impulsión y volumen	93
	Control de presión de impulsión	94
	Control de volumen impulsado	94
	Integración de Fluigent en LabView	96
4.2.2	Control del sistema de válvulas	97
4.3	Control de temperatura y del sistema de extracción de gases	99
4.3.1	Medición de la temperatura	99
4.3.2	Control del sistema de transferencia de calor	101
4.3.3	Control del sistema de extracción de gases	102
4.4	Sensado de radiación con SiPM	102
4.4.1	Electrónica asociada	103
5	Pruebas y resultados	107
5.1	Módulos de intercambio iónico	107
5.1.1	Cámara de retención	107
	Efecto de la presión y la velocidad de flujo	110
	Efecto del volumen inicial	111
	Pruebas de repetibilidad	111
	Prueba de radiactividad máxima	113
5.1.2	Cámara de purificación	113
	Prueba con la resina SCX	113
	Prueba con la resina de Alúmina	114
5.2	Módulo de reacción	115
5.2.1	Calentamiento y desgasificación. Membrana porosa a los gases	116
5.2.2	Absorción de [^{18}F]fluoruro en PDMS	117
5.3	Control del sistema en LabView	119
5.3.1	Secuencia de un estado, con una condición de cambio y sin Fluigent	120
5.3.2	Resultado de la primera prueba	120
5.3.3	Secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent	120

5.3.4	Resultado de la segunda prueba	120
5.3.5	Secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent	122
5.3.6	Resultado de la tercera prueba	122
5.4	Sensor de radiación	122
	Detección de actividad de un vial en diferentes píxeles	123
	Detección de actividad en los módulos del chip de PDMS	127
5.5	Síntesis de radiofármacos	130
5.5.1	Proceso de síntesis completo	130
5.5.2	Primera prueba de síntesis	133
5.5.3	Segunda prueba de síntesis	136
5.5.4	Tercera prueba de síntesis	137
5.5.5	Cuarta prueba de síntesis	139
6	Conclusiones y trabajos futuros	143
6.1	Conclusiones	143
6.2	Trabajos futuros	146
Apéndice A	Procesos de Fabricación	149
A.1	Proceso de fabricación del chip microfluídico	149
A.1.1	Diseño	149
A.1.2	Fabricación de máscaras	149
A.1.3	Preparación del sustrato	150
A.1.4	Fabricación del molde de SU8	151
	Capa semilla	151
	Capa para los canales	152
	Capas para la cámara	152
	Revelado	153
A.1.5	Fabricación del chip de PDMS	154
	Mezclado y desgasificación del PDMS	154
	Preparación del molde	154
	Inyección del PDMS en el molde	154
	Deposición de la membrana	154
	Curado inicial del PDMS y preparación para el pegado	155
	Curado final del PDMS y despegado	156
A.1.6	Proceso de fabricación de las cámaras de intercambio iónico	156
	Preparación del molde	156
	Mezclado y desgasificación del PDMS	156
	Extracción del chip y preparación para el pegado	156
	Curado final del PDMS	157
	Introducción de las resinas	157
Apéndice B	Esquemáticos adicionales	159
B.1	Esquemáticos del array SiPM	159

Apéndice C	Códigos de programación	163
C.1	Código para ARDUINO para medida de CPS con el array SiPM	163
C.2	Código en MATLAB para análisis de datos	164
C.3	Código en LabView	165
Apéndice D	Máscaras y planos	179
Apéndice E	Publicaciones	189
<i>Índice de Figuras</i>		201
<i>Índice de Tablas</i>		211
<i>Bibliografía</i>		213
<i>Índice alfabético</i>		223
<i>Glosario</i>		223

1 Introducción

Este capítulo permite comprender cuáles son las motivaciones y las necesidades que cubre la investigación que se realiza en la presente tesis doctoral. Por ello, se centra en las ventajas que supone el uso de la tecnología de los Sistemas Microelectromecánicos (Microelectromechanical Systems, MEMS) y de la microfluídica para conseguir diseñar un dispositivo que permita sintetizar un radiofármaco de manera eficiente. Se resalta cómo actualmente el desarrollo de este tipo de sistemas está jugando un papel fundamental en el aumento de aplicaciones en el campo médico, químico o biológico. Se explicará de qué manera se efectúa actualmente la síntesis de uno de estos fármacos y las aportaciones que este estudio proporciona al proceso actual. Por último, se destacarán los objetivos que se han marcado para conseguir implementar el sistema final.

1.1 Justificación de necesidad

Como es sabido, el cáncer es una de las enfermedades que más repercusión tiene en la sociedad y una de las principales causas de mortalidad a nivel global. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) una de cada seis defunciones en el mundo es provocada por esta enfermedad [16]. El cáncer es el nombre que se le da a un conjunto de enfermedades relacionadas entre sí. La característica común en todos los casos de cáncer es la proliferación excesiva y sin control de células anormales, produciéndose la invasión de tejidos normales. Al dividirse sin interrupción, estas células adicionales pueden llegar a formar masas que se denominan tumores. Por ello, es necesario el avance en alternativas de diagnóstico de esta enfermedad y ahondar en la mejora de la generación eficiente de fármacos a nivel oncológico teniendo como objetivo final mejorar los resultados de cura de estas patologías. Por todo ello, la inversión y el coste de producción es un factor fundamental a tener en cuenta para poder afrontar el problema de manera adecuada.

Uno de las principales vías para el análisis y el diagnóstico de este tipo de enfermedades es el empleo de la tecnología de Tomografía por Emisión de Positrones o Positron Emission Tomography (PET). A partir de esta técnica se pueden obtener imágenes in vivo de diversos

procesos bioquímicos o fisiológicos [100] y permite estimar cuáles son los focos de crecimiento celular anormal en el organismo para poder actuar eficazmente sobre ellos.

Estas imágenes se consiguen gracias a tomógrafos dispuestos en un anillo alrededor del paciente que detectan la radiación gamma del radiofármaco inyectado. Durante el proceso, se producen dos fotones gamma por la aniquilación entre un electrón cortical del cuerpo del paciente y un positrón producido por el radiofármaco. Para que se pueda formar la imagen ambos fotones se deben detectar al mismo tiempo ("en coincidencia") y deben provenir de la misma dirección pero con sentidos opuestos. Además, la energía que se produce debe superar un umbral mínimo para asegurar que no se producen dispersiones energéticas en los detectores (fenómeno de scatter) [19].

Los trazadores que se emplean en esta técnica de análisis están sintetizados a partir de radiofármacos de semivida corta que se administran al paciente por vía intravenosa. Posiblemente, el más conocido es la [^{18}F]Fludesoxiglucosa ([^{18}F]FDG), que se emplea para valorar aumentos o descensos en el metabolismo glicídico. Tras incorporarse al organismo se retiene en aquellos tejidos que tienen una elevada tasa metabólica, como ocurre en la gran parte de tumores malignos. Por ello, suele emplearse en el diagnóstico del cáncer de colon, de mama de pulmón, la enfermedad de Hodgkin, el linfoma no-Hodgkin y diversos melanomas.

Aunque la [^{18}F]FDG es el radiofármaco más utilizado a nivel mundial, existen otros más específicos que poseen aplicaciones en neurología, cardiología y oncología. Por ello se creyó conveniente centrar la presente tesis en otro tipo de radiofármaco menos conocido pero igualmente importante, el [^{18}F]fluoromisonidazol (1H-1- (3- [^{18}F] fluoro-2-hidroxipropil) -2-nitroimidazol, [^{18}F]FMISO), que incorpora como radioisótopo el ^{18}F y permite evaluar los niveles de oxígeno en tumores [39].

La hipoxia en los tumores se considera una de las principales complicaciones en el tratamiento de enfermedades mediante radioterapia. La detección y cuantificación de los niveles de oxígeno en tumores tiene una influencia significativa en la evaluación de los resultados en pacientes tratados con radiación [40]. A lo largo de los últimos años, se han desarrollado múltiples técnicas para medir el oxígeno en los tejidos. Por ello, las técnicas de imagen con 2-nitroimidazol y sus derivados se han utilizado para la detección de la hipoxia tumoral. El [^{18}F]FMISO se emplea además como marcador en el corazón de pacientes con isquemia miocárdica [53] y desempeña un papel importante en la predicción del estado de oxigenación en tumores durante la radioterapia.

Pese a la gran cantidad de radiofármacos existentes para el diagnóstico de diferentes enfermedades [48], su proceso de síntesis suele ser poco eficaz [110]. Por lo tanto, a nivel económico, los estudios para la mejora y el desarrollo de nuevos fármacos suelen ser costosos y complejos para la industria farmacéutica [21]. Por ello, la decisión de cualquier empresa farmacológica de comenzar ensayos clínicos a gran escala debe estar lo suficientemente fundamentada para asegurar la inversión. La reducción significativa de los costes de producción, haciendo el proceso más eficiente, permitiría alcanzar de manera más sencilla nuevas mejoras en los radiotrazadores actuales. La eficiencia en los radiofármacos de investigación, suele ser del 20-30 %. La dosis para un humano de radiofármacos con fluoruro [^{18}F] es cercana a los 10 mCi (370MBq).

Por lo tanto, pese a que el uso de la tecnología PET en medicina ha aumentado considerablemente debido a su utilidad en el diagnóstico de enfermedades, el número de

laboratorios de producción de radiofármacos de este tipo sigue siendo muy limitado, debido principalmente al alto precio de las instalaciones requeridas y a la escasez de personal especializado. La utilización de la microfluídica y de las técnicas de fabricación de microsistemas proporcionan una solución eficaz del problema que se plantea.

1.1.1 Producción de Radiofármacos

En esta sección se explica detalladamente el proceso de obtención actual de radiofármacos, poniendo como ejemplo la síntesis de uno de los múltiples radiotrazadores que existen.

Teniendo en cuenta la evolución actual de la biología molecular se espera que el número de radiotrazadores y de los diferentes fármacos crezca exponencialmente en los próximos años [32]. La posibilidad de potenciar la radiofarmacia y la radioquímica es un punto clave en el campo de la salud, más aún si tenemos en cuenta la utilidad de la tecnología PET en la búsqueda de nuevos compuestos terapéuticos.

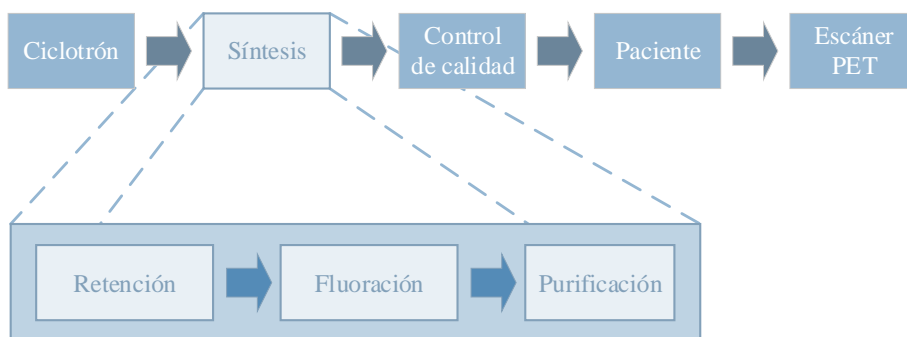


Figura 1.1 Proceso de producción de radiofármacos PET.

Para la producción de radiofármacos PET se podrían destacar tres etapas [74] [67]. En un primer lugar se procede a la producción del propio radioisótopo acelerando los iones del compuesto requerido en el interior de un ciclotrón. Posteriormente se procede a la generación y purificación del radiofármacos partiendo de la síntesis del radioisótopo, que es la etapa principal del proceso y en la que se centra la presente tesis. Por último se realiza un control de calidad, que incluye la determinación de la pureza radioquímica mediante el uso de un sistema de cromatografía líquida de alta eficacia o "high performance liquid chromatography" (HPLC) [14]. Tras estas etapas y otros análisis se procede a suministrar el radiofármaco al paciente y a realizar el examen PET. La figura 1.1 resume las fases de este proceso.

Pese a que existen varios emisores de positrones que se utilizan en el análisis PET, el flúor 18 o flúor-18 es el más empleado actualmente [94]. La razón principal es el tiempo de semivida que posee (110 minutos), lo cual facilita su transporte desde los centros de producción, donde se genera el flúor-18, hasta los centros médicos, donde se encuentran los escáneres PET.

En cuanto a la producción del radioisótopo, éste se genera en el interior de un ciclotrón [59]. Este equipo permite acelerar los iones en órbitas de radio y energía crecientes gracias



Figura 1.2 Imagen del ciclotrón Cyclone de 18/9 MeV situado en las instalaciones del CNA.

al uso combinado de un campo magnético y un campo eléctrico oscilante. Concretamente, en el caso del CNA, lugar donde se realizan la mayoría de las pruebas de funcionamiento, se dispone de ciclotrón Cyclone de 18/9 MeV fabricado por Ion Beam Applications (IBA, Bélgica), Fig. 1.2. El sistema, por tanto, es capaz de acelerar los protones y deuterones a 18 y 9 MeV, respectivamente. Por otro lado, las intensidades de corriente máximas que pueden ser extraídas en el blanco son de $80 \mu\text{A} \pm 10\%$ para protones y de $35 \mu\text{A} \pm 10\%$ para deuterones[2].

Este ciclotrón permite irradiar sobre un único blanco o sobre dos blancos diametralmente opuestos con una única partícula (Dual Bean Mode). Cuenta con hasta ocho puertos de irradiación, de los cuales se utilizan siete para la producción de radionúclidos de emisión de positrones, que son los radioisótopos más utilizados para los análisis PET. Para el caso de la producción de [^{18}F]FMISO se utiliza un blanco con un volumen de 2 mL con agua enriquecida en ^{18}O en su interior ($[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$, pureza $> 95\%$ en ^{18}O), para producir flúor-18 mediante la reacción $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$. El ^{13}N , el ^{11}C o el ^{15}O son otros radioisótopos que se producen en los diferentes blancos. El último puerto se utiliza como salida, en la que se ha instalado una línea que transporta el haz de partículas a una sala blindada, donde está situada la cámara de reacción para la producción de radiofármacos.

Una vez obtenido el radioisótopo se procede a la síntesis del radiofármaco a partir de éste. Todo el proceso se realiza en el laboratorio de radiofarmacia disponible en el CNA, como se puede ver en la figura 1.3. Se trata de una sala limpia que dispone de cinco celdas blindadas fabricadas por Comecer (Castel Bolognese, Italia) [3].

En cuanto a el proceso de síntesis de radiofármacos, podría dividirse a su vez en una primera fase de retención, una segunda fase de fluoración y una última fase de purificación.



Figura 1.3 Laboratorio de producción de radiofarmacia. En la imagen se pueden ver las distintas celdas de producción.

En el caso del CNA, todo el proceso se realiza en el módulo de síntesis Tracerlab FXFN. La figura 1.4 muestra el panel de control de dicho módulo.

Las estrategias de síntesis de $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ se pueden dividir en dos grupos principales, por un lado se puede realizar una sustitución nucleófila en un precursor con la posterior eliminación del grupo de protección [65] o la apertura del anillo de epóxido [52] y la producción de un marcaje con $[^{18}\text{F}]\text{Epifluorohidrina}$. Ambos enfoques tienen limitaciones, pero en general, el enfoque de etiquetado directo más prometedor de $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ parece ser la sustitución nucleófila del grupo saliente de tosilato por el fluoruro $[^{18}\text{F}]\text{F}^-$ en el precursor 1H-imidazol-1-propanol,2-nitro- β -[(tetrahydro-2H-piran-2-il)oxi-,4-metilbencenosulfonato (éster) (NITTP) y la posterior hidrólisis del producto.

Actualmente, la síntesis automatizada de $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ mediante este método se ha conseguido utilizando la purificación por HPLC, con un rendimiento radioquímico de más del 60 % con un tiempo de síntesis de aproximadamente 60 minutos [82] y utilizando la purificación Sep-Paks con un rendimiento de aproximadamente el 34 % en todo el tiempo de síntesis de aproximadamente 50 minutos, utilizando un módulo de síntesis de FDG comercial [53].

Como ejemplo del proceso de síntesis de este radiofármaco se va a relatar cómo se obtiene siguiendo el método empleado en las instalaciones del CNA, en la figura 1.4 se observa el panel de control que permite interactuar con el sistema.

En el caso del $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ se obtiene mediante la sustitución nucleofílica del precursor NITTP con $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ siguiendo el método utilizado en [98], pero acortando los tiempos en varios pasos de la síntesis. Con respecto a esto, se utilizan diferentes tiempos y temperaturas para la destilación azeotrópica, la fluoración, la evaporación de acetoni-

trilo y la hidrólisis. Además, también se emplean diferentes solventes para optimizar la neutralización y la purificación.

El [^{18}F]fluoruro se obtiene en el Ciclotrón de 18/9 MeV. Los parámetros de bombardeo son de 35 μA en un target de Nb lleno de agua enriquecida ^{18}O (Rotem Industries Ltd, Israel).

En la fase de retención [24], el radioisótopo llega directamente del ciclotrón al sistema. En el caso del [^{18}F]fluoruro viene diluido en agua enriquecida con ^{18}O y con otros radioisótopos no deseados que se generan durante el proceso de aceleración de los iones. Por lo tanto, para comenzar con la síntesis del radiofármaco, es necesario eliminar los compuestos no deseados para aislar el [^{18}F]fluoruro que se precisa. Por otro lado, el volumen de líquido que viene del ciclotrón es preconcentrado en el interior del cartucho de intercambio iónico. Por lo tanto, tras la obtención del fluoruro, el [^{18}F] F^- se retiene en un cartucho de resina de amonio cuaternario QMA (Waters Corporation, EE. UU.). Seguidamente, se eluye al reactor con una solución acuosa de 6 mg / mL de K_2CO_3 y se añaden 7,5 mg de Kryptofix K.2.2.2 en 0,5 mL de acetonitrilo (ambos reactivos de Merck) para complejar el potasio. La destilación azeotrópica de ambos disolventes se realiza durante 5 minutos a 85 °C.

El siguiente paso es la sustitución nucleofílica [17], para ello se introducen en el reactor 5 mg del precursor NITTP (ABX GmbH, Alemania) diluidos en acetonitrilo anhidro y se produce la reacción durante 5 minutos a 100 °C. Después, debe terminar de evaporarse el acetonitrilo, que se realiza a 85 °C durante 2 minutos, introduciendo en el reactor helio y realizando el vacío al mismo tiempo. El proceso se muestra en la figura 1.5.

A continuación se lleva a cabo la hidrólisis ácida del grupo protector tetrahidropiraniilo introduciendo en el reactor 1 mL de HCl 1 N durante cinco minutos a 100 °C. Luego es necesario neutralizar la solución añadiendo 1 mL de NaOH 1N.

Para la fase de purificación, se adapta el módulo de síntesis conectándole un cartucho de extracción en fase sólida (Solid-Phase Extraction, SPE) de alúmina (Waters Corp, EE. UU.) para retener el [^{18}F] F^- libre que no ha reaccionado y un cartucho de intercambio catiónico fuerte SCX (Grace Davison Discovery Science, EE. UU.) en serie, para retener impurezas catiónicas. La solución eluida se pasa por un tercer cartucho de fase reversa tC18 (Waters). La primera elución de este último cartucho se recoge en un vial para residuos. Tras el secado, se eluye el cartucho de tC18 con 1 mL de etanol en un vial colector con 20 mL de NaCl al 0,9 % y se dispensa a través de un filtro estéril de 0,22 μm (Merck Millipore, Alemania).

Una vez que se sintetiza el radiofármaco es imprescindible realizar el control de calidad sobre el mismo para que pueda ser suministrado a los pacientes [76]. Se deben tener en cuenta los requisitos de los medicamentos inyectables y de radioprotección que se requieren en los análisis PET, lo cual precisa que el radiofármaco se produzca con una elevada calidad. Este tipo de pruebas comprenden principalmente métodos analíticos de separación y concentración. Entre ellos destacan los procesos cromatográficos que son ampliamente utilizados, como la HPLC [77].

Cada lote de [^{18}F]FMISO se analiza para establecer el cumplimiento con los requisitos de la Farmacopea Europea para uso clínico (Monografía 01/2014: 2459). La pureza química y radioquímica se determina mediante un sistema de HPLC ICS-2500 Dionex (Thermo Scientific Dionex, EE. UU.) que incorpora un detector de UV (AD25 Dionex) acoplado a

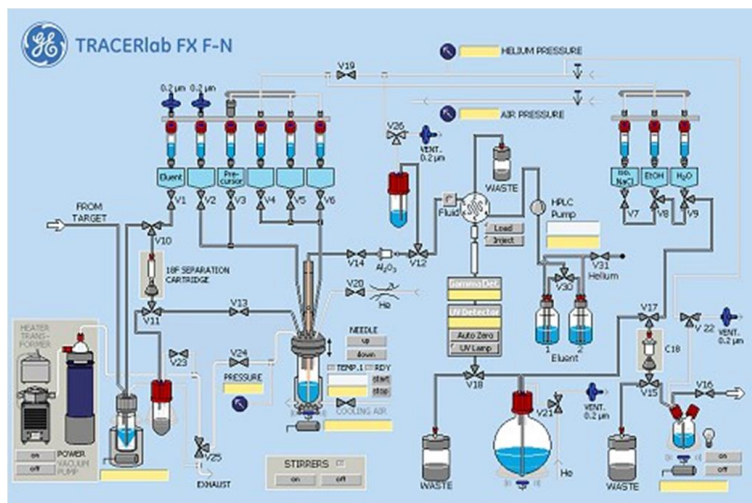


Figura 1.4 Panel de control del módulo Tracerlab. Desde el ordenador se puede actuar sobre las distintas partes del sistema: válvulas, presión de aire, bombas de vacío.

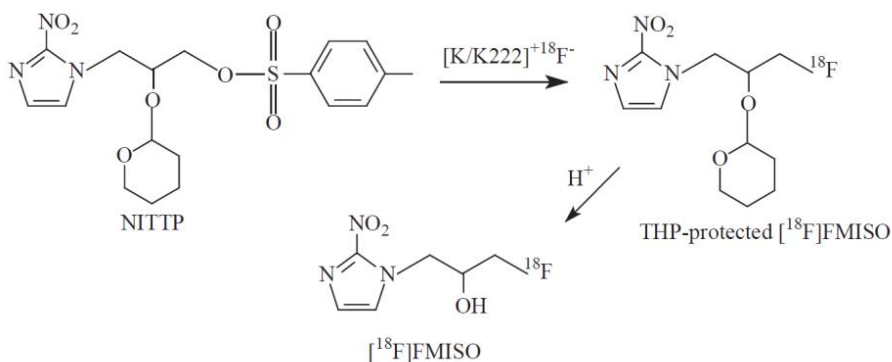


Figura 1.5 Proceso de síntesis del radiofármaco [¹⁸F]FMISO.

un detector de radiación (Gabi Raytest Isotopen Messgerate GmbH, Alemania). Para el análisis, se emplea una columna analítica de fase inversa Acclaim 120 C-18 (250 × 10 mm, 5 μm, Dionex) como fase estacionaria. Para la fase móvil, se emplea agua y acetonitrilo (90/10) con una velocidad de flujo de 1 mL/min. La longitud de onda λ se fija a 320 nm.

En el momento en que se ha sintetizado el radiofármaco y ha pasado los correspondientes controles de calidad, puede suministrarse al paciente para que se pueda realizar el examen PET. Para ello se emplea un escáner PET/CT [36]. Teniendo en cuenta bajo tiempo de semivida que poseen estos radioisótopos, el escáner PET/CT debe situarse lo más cercano posible al centro de producción para paliar las consecuencias producidas por el decaimiento de la dosis. Es por ello que el CNA dispone en sus instalaciones de un escáner PET/CT de

uso clínico, concretamente en el Centro de Diagnostico de Imagen (CDI), figura 1.6. Se trata de un equipo Siemens Biograph mCT con detectores PET, los cuales proporcionan un campo de vista axial de 162 mm, y detectores para TAC que permiten obtener imágenes de hasta 64 cortes [6].



Figura 1.6 Escáner PET/CT para pacientes situado en el Centro de Diagnóstico de Imagen (CDI).

Este equipo permite realizar numerosos tipos de estudio. Aunque el más empleado es el examen estándar PET/CT de cuerpo completo, también es posible realizar exámenes dinámicos PET, exámenes dinámicos TAC, PET o TAC con gating respiratorio, PET o TAC con gating cardíaco y adquisición PET en modo lista.

Actualmente los pacientes deben desplazarse hasta las instalaciones del CNA para se puedan realizar los análisis. Los exámenes de los pacientes son realizados por facultativos especialistas en medicina nuclear, personal de enfermería y técnicos en imagen.

Como ya se ha comentado, el número de laboratorios que se dedican a la producción de radiofármacos PET es aún muy limitado, esto se debe principalmente al alto coste sumado a la complejidad de las instalaciones requeridas. Pese a estas limitaciones estructurales, el uso de esta técnica de análisis se extendió considerablemente gracias a su utilidad y eficiencia en el diagnóstico de enfermedades de carácter oncológico. Por esta razón se aprecia un aumento del número de unidades de diagnóstico PET en los centros hospitalarios.

La principal problemática con este tipo de fármacos radiactivos sigue siendo el transporte, debido en parte a la baja eficiencia de la síntesis. El problema recae en que gran parte de la radiactividad del fármaco desaparece durante el proceso de síntesis, lo cual añadido a las pérdidas producidas durante el transporte, hace que muchos pacientes no puedan beneficiarse de las posibilidades de este tipo de técnicas. Por lo tanto, el aumento

de la eficiencia en este tipo de productos, en los que la capacidad radiológica decae a lo largo de su producción, es primordial.

1.1.2 Ventajas de la Microfluídica

En el presente apartado se justifica como el empleo de la microfluídica en el tipo de procesos anteriormente relatados puede suponer un avance a la hora de realizar la síntesis de radiofármacos [12].

El objetivo principal es la mejora de la eficiencia del proceso fabricación del radiofármaco en todos los sentidos. Por un lado nos encontramos que la eficacia del fármaco se ve altamente afectada por el tiempo de producción, debido al reducido periodo de semivida de los radioisótopos que lo componen. Es evidente, por tanto, que la reducción de volúmenes que propone la microfluídica supondría una mejora sustancial de los tiempos de reacción del proceso. Este aumento en la eficiencia se debe principalmente al incremento de la relación superficie-volumen, siendo este uno de los factores que determinan la velocidad a la que ocurre una reacción química [30]. Esto acelera los procesos termodinámicos que minimizan la energía libre. Teniendo en cuenta que nos encontramos ante radioisótopos de semivida relativamente corta, una aceleración del proceso de radiosíntesis supone una mejora evidente en la obtención del radiofármaco.

Otra de las ventajas principales es la descentralización del proceso de producción [102]. El transporte de los radiofármacos desde los centros de producción hasta los hospitales donde se encuentran los pacientes y los equipos de imagen supone un descenso en la eficiencia del radiofármaco. La solución al problema pasa por un modelo descentralizado. Actualmente la generación tanto del radioisótopo como del radiofármaco se realiza en el mismo lugar, siendo éste último el que se envía a los distintos centros provistos con escáner PET. Esto implica una reducción de su efectividad durante el transporte debido al decaimiento radiológico del producto, lo cual se suma a los problemas de eficiencia de la reacción. Un sistema descentralizado implicaría el transporte del radioisótopo a los centros médicos, que incorporarían un sistema de generación de radiofármacos microfluídicos como el que se propone. De esta manera la síntesis del radiofármaco y el análisis PET del paciente se realizarían en el mismo lugar, mejorándose de esta manera la eficiencia.

Todo el proceso se realiza actualmente con la ayuda de módulos automatizados [56]. Estos módulos son caros y voluminosos y se deben instalar en laboratorios equipados con celdas de plomo a un coste muy alto. La miniaturización de los equipos también supone una mejora en este sentido, ya que solo sería necesario blindar la zona del chip donde se realiza la reacción. Además, el volumen de los reactivos empleados también se vería sustancialmente disminuido, lo cual generaría una reducción de los costes derivados de la utilización de estos productos.

Otra de las ventajas del uso de esta tecnología es que los chips para microfluídica se realizan con materiales desechables[107]. Esto supone una mejora a nivel de contaminación radiológica, ya que, no es necesario aguardar el tiempo de decaimiento de los isótopos entre las distintas producciones del radiofármaco. Al ser desechable se puede cambiar el chip y comenzar una nueva producción, todo esto reduce las complicaciones derivadas de la limpieza del reactor, haciendo más sencillo el uso de este dispositivo,

Por otro lado, al ser un sistema automatizado, se reduce la dificultad en el proceso [117]. Los sistemas actuales son altamente complejos por lo que precisan de personal muy especializado para su utilización. Una mejora en la monitorización de las etapas mejoraría la automatización y llevaría consigo una simplificación en el proceso.

En definitiva las mejoras en la producción respecto a los sistemas macroscópicos ya existentes consisten principalmente en la reducción del tiempo de producción, en el aumento de la eficiencia y la reducción del coste de los dispositivos de producción.

1.1.3 Proyecto MICRORAD

La presente tesis se enmarca dentro del proyecto denominado Microlab-en-Chip para Producción de Radiofármacos para Diagnóstico PET (MICRORAD) financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía, dentro del programa de proyectos de investigación de excelencia con referencia P12-TIC-2296. Se pretende contribuir principalmente en el desarrollo de sectores clave en Andalucía incidiendo en alcanzar una economía basada en el conocimiento. A su vez, se busca impulsar la transferencia tecnológica desde las universidades y los centros de investigación a la industria, haciendo hincapié en comercializar eficazmente los resultados y fomentar el desarrollo económico y la creación de empleo.

El proyecto lo desarrolla conjuntamente el Departamento de Ingeniería Electrónica, concretamente desde el Grupo de Microsistemas y el Centro Nacional de Aceleradores (CNA), ambos de la Universidad de Sevilla y el Grupo de Ingeniería Electrónica del Departamento de Física de la Universidad de las Islas Baleares.

El objetivo final del proyecto es de un sistema de generación de radiofármacos a partir de la miniaturización de dispositivos Lab-on-chip. Estos radiofármacos se utilizarán principalmente para aplicaciones basadas en la tomografía por emisión de positrones (PET), que como ya se ha comentado, es una de las técnicas más eficientes para el diagnóstico y la detección de células cancerígenas.

A lo largo del desarrollo del proyecto se exige la consecución de una serie de tareas con la intención de alcanzar los objetivos marcados. Estas tareas podrían resumirse en: diseño y fabricación de los módulos necesarios para obtener el radiofármaco, integración de los componentes de control y actuación necesarios para el correcto funcionamiento del Lab-on-chip, validación de los fármacos generados y difusión de los resultados.

1.1.4 Grupo de Microsistemas

La realización de la presente tesis ha sido posible gracias al Grupo de Microsistemas de la Universidad de Sevilla. Este grupo pertenece a su vez al Grupo de Tecnología Electrónica del Departamento de Ingeniería Electrónica de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Sevilla. El grupo de microsistemas tiene una amplia experiencia en el diseño y fabricación de dispositivos MEMS, además de desarrollar otras líneas en el campo de los microsistemas [46]. Fue constituido en el año 1998 y desde entonces ha demostrado un amplio interés en el campo de la microfluídica y de los sensores MEMS, con aplicaciones tanto en el área de la biología como en el sector aeroespacial. Durante este tiempo se han realizado colaboraciones con numerosos grupos de investigación, entre los que destacan: el Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Cataluña, el Micro

/ Nanoelectronic Devices Group of the Institute of Microelectronics and Microsystems, Ecole Polytechnique Federale (EPFL) en Lausanne, la Universidad de Auburn en Alabama (Estados Unidos), la Universidad de Rostock (Alemania), la Universidad de Toronto (Canadá), y el Departamento de Ingeniería Aeroespacial y Mecánica de Fluidos de la Universidad de Sevilla. Como ya se ha indicado, para la consecución del proyecto en el que se basa esta tesis (MICRORAD), se ha contado con la colaboración del Centro Nacional de Aceleradores. Incidiendo en el campo de la microfluídica y BioMEMS, ya que es la línea en la que se encuentra ubicado el presente trabajo de investigación, el grupo de microsistemas ha sido pionero en el desarrollo de sistemas que incorporan e integran estas tecnologías. En este sentido se han alcanzado excelentes resultados en la fabricación de microarquitecturas que integraban tecnologías microfluídicas para la producción de partículas de dimensiones a escalas micro y nanométricas (los denominados "Flow-Focusing" [54] y "Electro Flow-Focusing" [44]). También se han desarrollado tecnologías de sensado en dispositivos microfluídicos. En el proyecto MEDITRONIC, se implementó una plataforma que servía para la monitorización de enfermedades a tiempo real. La plataforma estaba formada por una matriz de microagujas que extraían líquido intersticial de la piel e inyectaba ciertos medicamentos en el instante necesario [9]. En relación con el control de líquidos en una plataforma microfluídica, el grupo se hizo cargo del proyecto MIREIA, cuyo objetivo era diseñar un sistema para la extracción y análisis de fluidos biológicos e inyección de fármacos en aplicaciones médicas. Para ello se desarrolló la tecnología PCB-MEMS (Printed Circuit Board-MEMS), que combina la utilización de materiales poliméricos con las técnicas de fabricación de circuitos integrados. El sistema consigue el movimiento de los fluidos en su interior sin la utilización de puertos neumáticos externos gracias al diseño y fabricación de un microválvula [75]. Actualmente, además de MICRORAD, el Grupo de Microsistemas se encuentra embarcado en el proyecto ISILAB. Durante su consecución se perfeccionó la impulsión de líquidos mediante el uso de conexiones eléctricas y el análisis colorimétrico de los compuestos [33]. Actualmente dicho proyecto investiga la estimulación de redes neuronales a través del empleo de microelectrodos de oro [18]. El Grupo de Microsistemas posee entre sus instalaciones una sala limpia de clase 100 principalmente utilizada para la fabricación de componentes MEMS. Dicha sala consta de sistemas de filtrado de aire y de producción de flujo laminar, para evitar contaminaciones y garantizar la mínima presencia de partículas en suspensión en el aire. Entre el equipamiento instalado en la sala limpia se incluye una alineadora para fotolitografía (equipada con una lámpara UV de 900W), un fotoplóter para la fabricación de las máscaras de fotolitografía, hot-plates y un horno para el curado de resinas, un equipo de sputtering para metalización, spincoater para la deposición de resinas, báscula de precisión, campana de vacío, máquina de wire-bonding, bancos de grabado químico, láser de picosegundos para micromecanizado y equipos de visión, entre otros materiales de laboratorio.

1.2 Objetivos

El objetivo final de esta tesis es el estudio y la fabricación de sistemas microfluídicos que mejoren los actuales procesos de producción de radiofármacos PET. De esta manera se busca mejorar los protocolos de fabricación de dichos radiofármacos.

Para conseguir estos objetivos se utilizarán varias de las técnicas ya conocidas en la fabricación de los microsistemas, junto a otras que serán específicas para la aplicación que se va desarrollar a lo largo del estudio. Por otro lado, se hará necesario el empleo de la electrónica para conseguir un control adecuado sobre el sistema.

Se optimizarán, por tanto, cada una de las etapas del proceso de producción. Como se ha descrito anteriormente, estas fases son la retención del radioisótopo procedente del ciclotrón, la síntesis de radiofármaco, en la cual el radioisótopo reacciona con el precursor, y la purificación del radiofármaco, en la que se eliminan los productos no deseados. Tras esto se procederá a realizar un control de calidad en el que se comprobará la pureza del producto.

Se buscará en todo momento reducir los costes de síntesis del radiofármaco haciendo, de esta manera, que el sistema sea lo más eficiente posible, para favorecer la producción en masa de los productos derivados del mismo. Por ello, el dispositivo empleado será desechable, reduciendo las posibilidades de contaminación radiológica y acelerando el proceso de fabricación.

Se comprobará, de manera experimental, que todos los sistemas microfluídicos que se utilizan en las diferentes etapas realizan su función de manera correcta y que su ensamblaje es el adecuado. Las reacciones que se realizan en el interior del chip serán controladas con los sensores necesarios para garantizar la fiabilidad y la repetitividad del proceso. El control de todo el sistema y la monitorización del proceso serán imprescindibles para la consecución de estos objetivos.

2 Desarrollos Previos

El objetivo de este capítulo es realizar una revisión de los trabajos que han servido como base para el presente estudio. Se hace imprescindible, por tanto, una revisión de la literatura relacionada con el objetivo de la tesis y un concienzudo estudio del estado de arte actual. Una vez se haya hecho una composición de lugar de los avances que se han producido principalmente en la generación de radiofármacos, se indicarán las aportaciones principales de esta tesis.

2.1 Estado del Arte

2.1.1 Sistemas microfluídicos para la síntesis de radiofármacos

A lo largo de los años se ha generalizado la utilización de reactores químicos para la investigación y los procesos industriales. Su sustitución por microrreactores para la realización de técnicas similares supone una evidente ventaja en términos de la eficiencia de la reacción. En general, en los sistemas basados en tecnología MEMS, se puede hablar de una diferenciación en dos tipos de dispositivos, aquellos que están basados en microcapilares y aquellos basados en microcanales [81]

Los sistemas basados en microcapilares suponen una traducción directa de dispositivos utilizados en la química farmacéutica a dimensiones más pequeñas. Evidentemente, una de sus características principales es el uso de volúmenes muy pequeños de reactivos, que van desde los nL a los pocos μL . La otra característica que los define es que suelen emplearse para reacciones que se producen de manera secuencial. El mezclado de los productos, en el interior de sus cámaras de reacción, se suele realizar a mayor velocidad que a escala macro. Estas cámaras suelen hacerse planas para favorecer las evaporaciones y el intercambio de solventes. En definitiva, son diseños menos propensos a problemas de obstrucción y en los que al aumentar las concentraciones locales, aumenta la tasa de reacción.

Por otro lado, a diferencia de los anteriores, los sistemas basados en microcanales, realizan las reacciones mientras los reactivos fluyen por su interior. Por ello, durante la reacción, es deseable crear un flujo turbulento que dependerá del caudal, la viscosidad y la geometría del diseño. Los canales empleados suelen tener menos de $300\ \mu$ de anchura, con

lo que, al aumentar el área de contacto se mejora la mezcla y la transferencia de energía durante el calentamiento.

La elección del material de fabricación del sistema microfluídico también es primordial a la hora de diseñar un dispositivo de este tipo. La fotoresina SU-8 es uno de los materiales que típicamente se emplean en microfluídica [92]. Por otro lado, en los actuales estudios relacionados con microfluídica se emplean numerosos tipos de materiales especialmente orientados a la fabricación de plataformas biológicas [85]. La figura 2.1 y la figura 2.2 muestran algunos ejemplos de dispositivos fabricados con distintos materiales. Los diversos tipos de plásticos son frecuentemente usados en este tipo de dispositivos, particularmente por su fácil implementación comercial [34] [57]. El poliestireno, el teflón o el metacrilato son algunos de los plásticos más utilizados en aplicaciones biológicas que precisan biocompatibilidad y resistencia al ataque químico de los solventes [90]. En los últimos años se están implementando dispositivos basados en otros materiales más novedosos como los hidrogeles [22] o incluso dispositivos basados en papel [69].

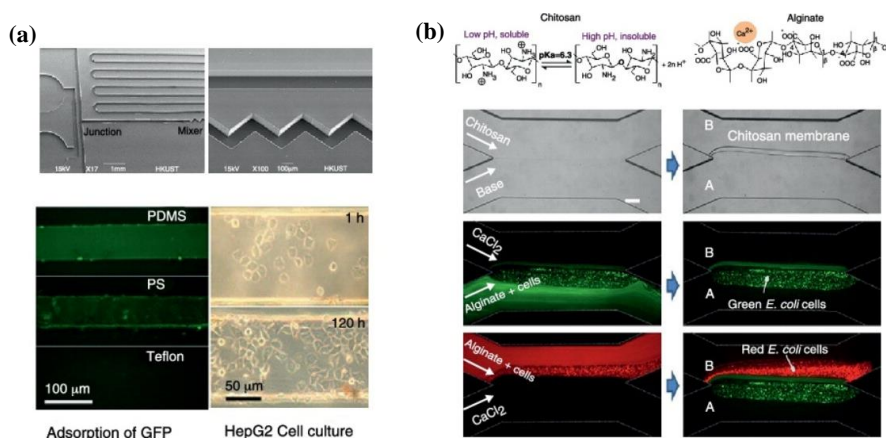


Figura 2.1 (a) Ejemplo de chip microfluídico fabricado en teflón. (b) Chip con hidrogel para la observación y el control de la señalización bacteriana mediante biopelículas estratificadas [85] .

Los materiales basados en elastómeros de silicona se han convertido en una de las principales opciones para la realización de chips de microfluídica. El compuesto basado en silicona que más destaca por su uso es el polidimetilsiloxano (PDMS) [72]. Entre las características principales que justifican su uso generalizado destacan la permeabilidad a los gases, lo cual permite extraer sustancias volátiles del interior de cámaras de reacción a través de finas membranas [58]. Además, ha demostrado ser uno de los mejores materiales para la integración de válvulas debido a su elasticidad [8]. Esta capacidad de deformación unido a la biocompatibilidad del material permite que se emplee en numerosas aplicaciones de carácter médico, como chips que son capaces de implementar el funcionamiento de un pulmón [47] o de los vasos sanguíneos [111]. Por último, debido a su transparencia, destaca por sus excelentes propiedades ópticas [93].

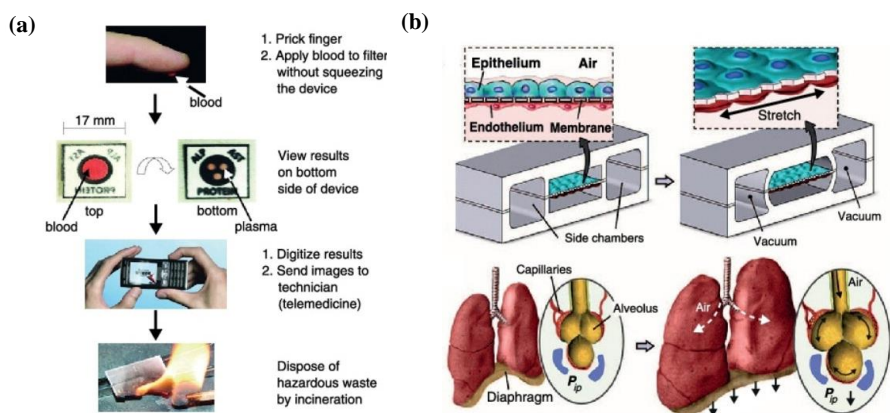


Figura 2.2 (a) Medición de marcadores de la función hepática utilizando un dispositivo fabricado en papel. (b) Reconstitución de las funciones pulmonares en un chip híbrido de PDMS [85] .

Otra parte importante en este tipo de dispositivos es el control sobre el flujo de los líquidos que intervienen en el proceso [11]. Entre estos se pueden destacar los que contienen válvulas que se accionan mecánicamente [83], neumáticamente [96], electrocinéticamente [62], por cambios de fase [108] o por el empleo de una fuerza externa [20].

Los sistemas neumáticos son los que típicamente se han venido empleando en los dispositivos microfluídicos fabricados en PDMS, ya que aprovechan las capacidades elásticas de este material [101]. Generalmente utilizan el movimiento de una membrana de PDMS para interrumpir el flujo. La presión neumática se aplica a la membrana PDMS a través de un canal dedicado denominado "línea de control" o "canal de control". El canal de control que acciona la válvula funciona mediante una fuente externa de presión de gas, pero también puede llenarse con un fluido para evitar que el aire penetre en el microcanal a través de la membrana.

La ventaja principal de estas microválvulas es que se pueden integrar fácilmente mediante los procesos de litografía estándar con los que la mayoría de los laboratorios están familiarizados. Sin embargo suelen necesitar varias capas dentro del mismo dispositivo para el control de los líquidos, lo cual dificulta la fabricación. Por otro lado, son necesarias fuentes de presión externas.

Un ejemplo que utiliza los canales de control y actuadores lineales para la fabricación de válvulas es el que emplean los actuadores mecánicos de las pantallas de Braille que normalmente se emplean para comunicarse con los ciegos [41]. En este sistema cada pin presiona sobre un depósito lleno de líquido que actúa como pistón y transmite la presión, a través de un canal de control, a una válvula neumática basada en membrana. Una limitación es que los puntos de presión no pueden estar muy cercanos entre sí, y la distancia más pequeña depende del grosor del dispositivo.

A continuación, se explicarán varios ejemplos y enfoques tecnológicos para la fabricación de sistemas microfluídicos basados en microrreactores.

Un ejemplo significativo de dispositivo basado en microcapilares es el relatado por Lee [61]. Este sistema sirve para realizar la síntesis del [^{18}F]FDG basándose en la utilización de reactivos a escalas que van desde los nanolitros a los microlitros. Todo el proceso se realiza en el mismo chip de PDMS, reduciéndose de esta manera la exposición a agentes contaminantes radioactivos. Por lo tanto, en un mismo dispositivo se realizan cuatro procedimientos distintos: preconcentración del flúor, evaporación, mezclado y fluoración. Una de las principales ventajas de este modelo basado en microcapilares es que el flúor está concentrado en pequeños volúmenes de agua que pueden ser evaporados muy rápidamente. La figura 2.3 (a), muestra el circuito descrito.

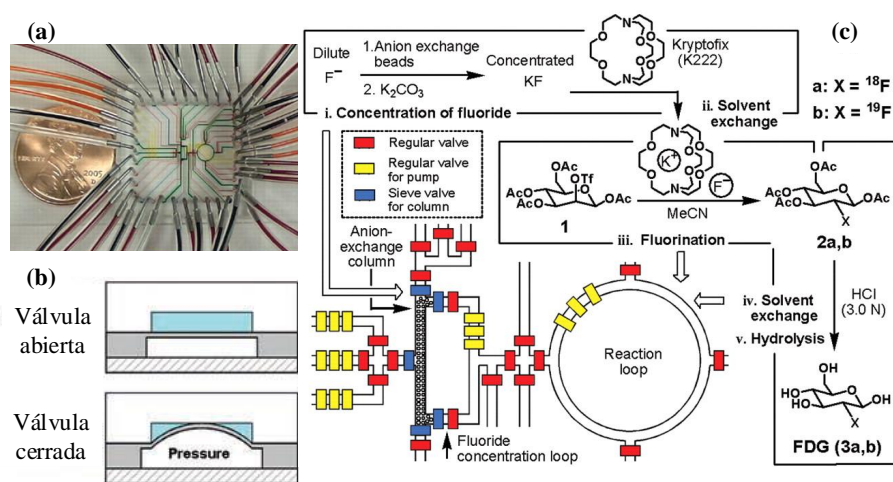


Figura 2.3 (a) Fotografía del chip realizado en PDMS, los canales tienen distintos colores para identificar su función. (b) Esquema del funcionamiento de las válvulas. (c) Esquema del chip completo y resumen de los pasos para realizar la síntesis del [^{18}F]FDG [61] .

El chip está fabricado en PDMS mediante dos moldes realizados con fotolitografía de multi-capas. Estos moldes servirán para realizar los canales microfluídicos y la capa de control de flujo, donde se sitúan las válvulas. Estas funcionan mediante gas argón que, al pasar por los canales de la capa de control de flujo, actúa sobre los canales microfluídicos. De esta manera se hacen coincidir ambas capas en determinados puntos para accionar las válvulas. Cuando el gas pasa por los canales éstos se hinchan cerrando el paso a los líquidos. Este funcionamiento se muestra en la figura 2.3 (b).

El sistema integra un canal con una resina de intercambio iónico figura 2.3 (c) y un anillo donde se van a producir las reacciones. Para mover los líquidos a las distintas partes del circuito se utilizan bombas peristálticas fabricadas igual que las válvulas anteriormente mencionadas distribuidas a lo largo del sistema. Su funcionamiento es el mismo que el de las válvulas de cierre del paso de fluido, en este caso se accionan repetidas veces para bombear los reactivos. Los canales microfluídicos tienen una altura de $45\ \mu\text{m}$ y una anchura de $200\ \mu\text{m}$. En el caso de los canales de la capa de control tienen una altura de 25

μm y una anchura de $250\ \mu\text{m}$.

Para realizar la síntesis se introduce el $[^{18}\text{F}]$ en el anillo de reacción y todas las válvulas se cierran. El circuito se calienta a $100\ ^\circ\text{C}$ durante 30 segundos y seguidamente se mantiene a $120\ ^\circ\text{C}$ durante 50 segundos. De esta manera se elimina el agua del circuito, ya que el precursor de triflato de manosa necesita condiciones anhidricas para realizar la reacción correctamente. Se utiliza la bomba de circulación para que los reactivos se mezclen eficientemente en el anillo. De manera similar se realizan todas las fases de síntesis de $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$, obteniéndose un producto con un grado de pureza superior al 90%. El proceso se muestra en la figura 2.4. El sistema al completo se controla mediante programación en Labview.

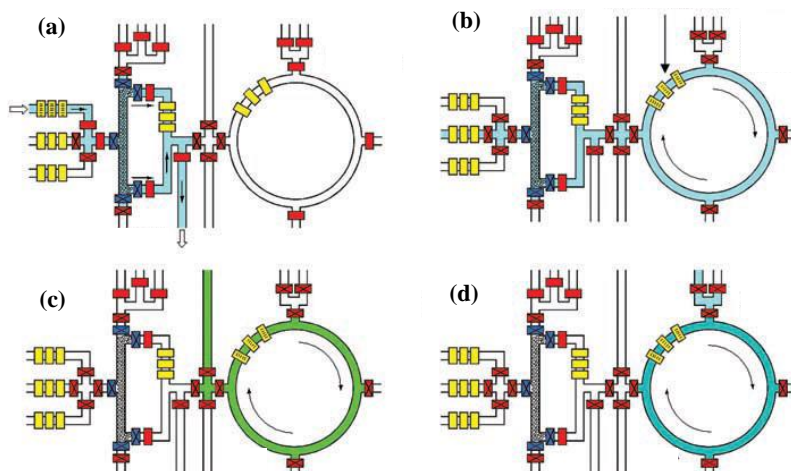


Figura 2.4 (a) Preconcentración del $[^{18}\text{F}]$ en la columna de intercambio iónico. (b) Evaporación del agua de la muestra en el anillo de reacción tras su elución desde la columna de intercambio. Se cierran todas las válvulas y se activa la bomba de recirculación. (c) Reacción de fluoración, en la que se introduce el triflato de manosa y el Kryptofix en el anillo (d) Fase de hidrólisis, en la se introduce HCl en anillo para obtener el producto final [61] .

En definitiva, las ventajas de este diseño son la alta transferencia de calor debido a sus reducidos volúmenes, la alta velocidad de reacción del producto y la mejora en la eficacia de la reacción. Este diseño es capaz de acelerar el proceso reduciendo el volumen de reactivos necesarios. Sin embargo, el sistema muestra una serie de desventajas. Por un lado, debido a lo reducido de los volúmenes empleados, solamente se ha conseguido producir $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ para realizar pruebas en ratones, con una carga radioactiva de entre 100 y $200\ \mu\text{Ci}$. Por otro lado, el proceso de fabricación, basado en distintas capas, dificulta la producción de estos dispositivos.

Uno de los autores del trabajo anterior, Elizarov, continua con los avances conseguidos a partir de este y desarrolla un nuevo reactor basado en la tecnología de microcapilares [27]. De la misma manera que el anterior, el dispositivo consiste principalmente en un reactor

microfluídico para la radiosíntesis del [^{18}F]FDG y resalta que es capaz de sintetizar dosis para humanos para su análisis en dispositivos de Emisión por Tomografía de Positrones (PET). En la figura 2.5 (a) se puede ver el diseño del chip microfluídico.

El chip completo esta realizado en PDMS utilizando técnicas basadas en la litografía para su fabricación. En este caso, el control de los líquidos, se realiza a través de válvula neumáticas. En su artículo el autor resalta la importancia de la elasticidad y la permeabilidad del PDMS a la hora de elegir este material, ya que es importante realizar la desgasificación de la cámara mientras se produce la reacción.

Por lo descrito anteriormente, el reactor está formado por dos capas distintas, una primera capa que contiene los canales y una cámara de reacción circular (denominada *coin-shaped reactor*) y una segunda que combina el control de las válvulas y una rejilla de extracción de gases colocada bajo la cámara de reacción.

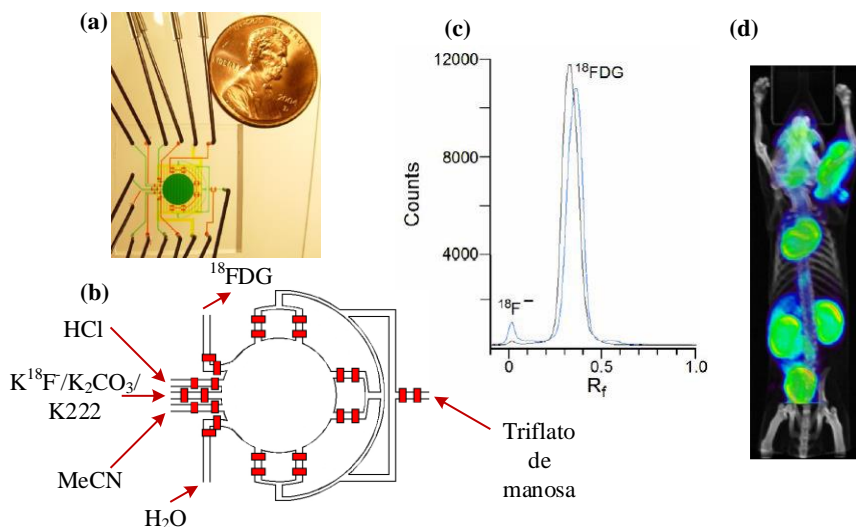


Figura 2.5 (a) Imagen del chip completo con los canales microfluídicos en verde, las válvulas en rojo y el serpentín de extracción en amarillo. (b) Estructura central del reactor con los reactivos que se introducen para la síntesis de [^{18}F]FDG. (c) Dosis del radiofármaco analizadas tras ser eluido (pureza del 96 %) y tras ser purificada (pureza de más del 99 %). (d) Validación de la síntesis mediante imagen PET de un ratón [27].

En cuanto al reactor, es capaz de albergar un volumen cercano a los $5\ \mu\text{L}$. Se compone de un disco de 5 mm de diámetro y $250\ \mu\text{m}$ de altura, diseñado para maximizar la transferencia de calor, ya que gracias a su baja altura, se asegura que el calor se transmita de forma homogénea. Su forma circular permite que se mejore el mezclado del producto. En cuanto a esta propiedad el autor realiza un concienzudo estudio que se analiza más adelante. Por otro lado, tiene suficiente área para permitir que se conecten los canales necesarios de entrada y salida para los distintos reactivos. Estos canales se fabrican con

una altura de $45\ \mu\text{m}$ y una anchura de $200\ \mu\text{m}$. En la figura 2.5 (b) podemos ver el reactor con las mencionadas entradas.

Como se ha señalado, es necesario extraer los gases de la cámara mientras se produce la reacción. Para ello, se utiliza un serpentín de ventilación colocado justo debajo de la cámara y separado de esta por una membrana de PDMS. Uno de los principales motivos para utilizar este material se debe a su capacidad de ser poroso a los gases, especialmente cuando la extracción se realiza a través de una fina membrana de $50\ \mu\text{m}$, como es el caso. Para favorecer la salida de los gases se aplica un flujo de gas en el serpentín, lo cual favorece a la disminución de los tiempos de reacción. El vacío aplicado en el serpentín, deforma ligeramente la cámara y ayuda a mantener los líquidos en su interior. El serpentín tiene $100\ \mu\text{m}$ de alto y $250\ \mu\text{m}$ de ancho.

Una de las partes más críticas de la producción de radiotrazadores PET es que, para conseguir un producto con un alto grado de pureza química los reactivos deben ser correctamente mezclados durante la síntesis. Esto favorecerá en gran medida la eficiencia final de la muestra. Es por ello que Elizarov realizó, años más tarde, un completo estudio sobre la mejora del mezclado en su reactor [28].

En este documento se estudian soluciones a partir de las ecuaciones de Navier Stokes para diferentes geometrías del reactor usando para ello tanto programas de simulación como técnicas de imagen de análisis de fluorescencia. En primer lugar, se realizó un estudio de un modelo de COMSOL Multiphysics que cubría dos características principales que repercuten en la mejora del mezclado. Por un lado la influencia del ángulo de entrada del solvente en la cámara y por otro el efecto de la presión en el reactor. Además de lo anterior, se realizaron pruebas sobre el funcionamiento del reactor con múltiples entradas o con una única entrada. Se comprobó que la inercia del líquido se ve reducida con el empleo de varias entradas. Es por ello que el autor realiza su estudio con simulaciones de una sola entrada.

Con respecto al efecto del serpentín en el proceso, el autor destaca que el aumento del gradiente de presión negativa se traduce en una mejora de la mezcla en la cámara. Esta técnica “asistida por vacío” produce una mejora sustancial de la mezcla a una presión de entrada de 0,7-1 bar. Las figuras 2.6 (a) y la figura 2.6 (b) muestran los efectos de vacío en el proceso de mezclado.

Para completar el estudio, el autor demuestra la eficiencia de la elución utilizando imágenes de fluorescencia. Se seleccionan dos geometrías para pruebas, una de ellas tiene canales de entrada y salida opuestos entre sí, la otra, utiliza una entrada y una salida tangencial. En la prueba, los canales tangenciales son siempre más eficientes que los perpendiculares.

Finalmente, se prueban varios caudales y ángulos de entrada y salida, llegándose a la conclusión de que una distribución tangencial en $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$ (donde α es el ángulo de entrada y β el ángulo de salida) supone la mejor configuración para reducir los tiempos y mejorar la elución. El caudal utilizado más favorable es de $15\ \mu\text{L} / \text{s}$. La figura 2.7 muestra algunos de los resultados de estas pruebas.

Es importante recalcar que estos dos estudios han sido especialmente útiles en los inicios del presente trabajo de investigación. El uso de un material desechable y económico como el PDMS aporta numerosas ventajas en la fabricación y desarrollo de este tipo de dispositivos. Además se aprovecha su capacidad a la hora de fabricar membranas porosas a

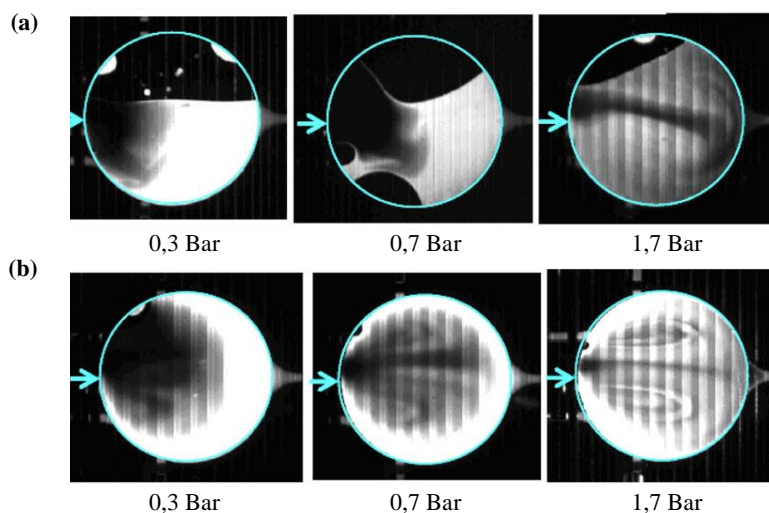


Figura 2.6 Estudio de las imágenes grabadas, donde las zonas oscuras representan el agua y las zonas claras una solución fluorada. (a) Mezcla con un solo canal perpendicular sin asistencia de vacío. (b) Mezcla con un solo canal perpendicular con asistencia de vacío [28].

los gases para mejorar la reacción. Esta propiedad cobra importancia si se tiene en cuenta que durante la síntesis de $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ existen pasos en los que es importante contar con un entorno anhidrico, que sería difícil de obtener en un sistema con un reactor estanco. El uso del vacío para acelerar la reacción y el completo estudio sobre el mezclado en la cámara, son otras de sus aportaciones más importantes. Sin embargo, Elizarov no profundiza en otras fases de la síntesis igualmente interesantes. En concreto, utiliza cartuchos de resinas de intercambio externos, lo cual reduce el factor de integración del prototipo al aumentar el área que se emplea para el sistema. Además, el autor únicamente consigue realizar síntesis con una carga suficiente para su uso en pruebas en animales (3 mCi), aunque alcanza una pureza química muy elevada del 99.3 %. Los resultados se pueden ver en la figura 2.5 (c) y la figura 2.5 (d). En cuanto a esto, el estudio indica que para obtener múltiples dosis para humanos se debe reducir absorción de flúor en el PDMS. Sin embargo, no se profundiza en cuales son los motivos que provocan esta absorción y en qué momento del proceso de síntesis se producen. Siguiendo esta hipótesis y para evitar la absorción, se publica otro trabajo más adelante en que se intenta reducir este efecto impregnando los canales de PDMS con Kritox 100 (Dupont), un tipo de aceite fluorado [29]. Pese a señalar que supone una mejora, implica la utilización de más productos y un paso más en el proceso de fabricación del dispositivo.

Además de los citados sistemas basados en microcapilares es interesante destacar las ventajas de aquellos sistemas que utilizan un volumen de líquido mayor y que están basados en microcanales. Un ejemplo de sistema basado en esta tecnología es el NanoTek desarrollado por Advion (EE. UU., Código de producto: 900-0003). De hecho, el Nanotek

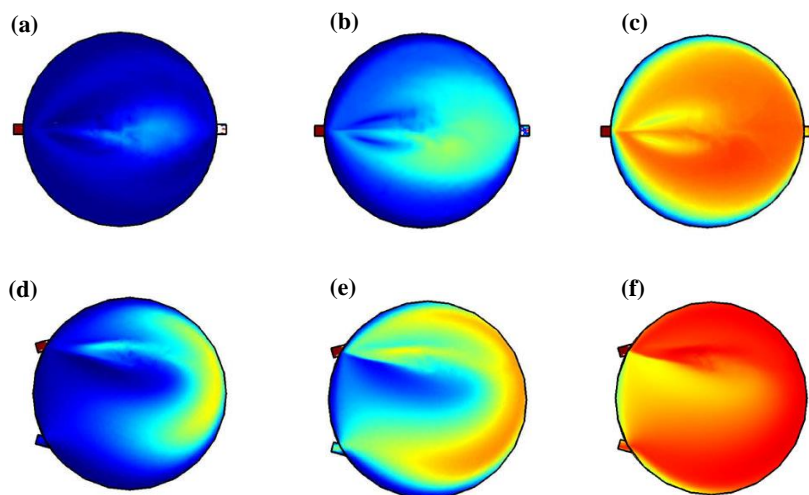


Figura 2.7 Campos escalares durante la elución, donde el color azul indica el fluido no eluido y el color rojo el fluido eluido. (a) 30 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (b) 50 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (c) 80 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (d) 30 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$. (e) 50 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$. (f) 80 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$ [28].

MCS es un sistema microfluídico capaz de ofrecer la síntesis a microescala y macroescala mediante el uso de diversos isótopos [79]. Los componentes modulares que se emplean en esta plataforma proporcionan flexibilidad en la producción de radiotrazadores, de tal manera que abre la posibilidad de elaborar distintos productos relacionados con la síntesis de radiofármacos. El proceso de marcado del radioisótopo normalmente se completa en 1-2 minutos (dependiendo del tipo de producto que se desee) y permite realizar múltiples producciones en un solo día.

Como se puede ver en la figura 2.8 el sistema consta de un módulo de concentración y un módulo base, ambos controlados mediante un software especialmente programado para este equipo. El módulo de concentración incluye una bomba de jeringa de baja presión conectada a una válvula de seis vías que se utiliza para el reparto de reactivos y un vial de secado equipado con un control de temperatura. Este módulo se utiliza para atrapar el flúor mediante una trampa de resina de intercambio aniónico. Por otro lado, el módulo base, está formado por dos bloques: el módulo del reactor y el módulo de bombeo. Este último está formado por dos bombas de jeringa conectadas cada una de ellas a su propia válvula de ocho vías que se utiliza para el reparto de los distintos solventes que son necesarios en el proceso. La parte más destacable de todo el circuito es el módulo del reactor. Las válvulas del módulo de bombeo conectan sus salidas con el reactor, equipado a su vez con un control de temperatura. El reactor está fabricado a partir de un tubo de sílice de $110\ \mu\text{m}$ de diámetro interno y una longitud de 2 m. Este tubo se enrolla sobre sí mismo y se sujeta mediante un anillo de latón. Tras pasar por el reactor el radiofármaco pasa por el módulo

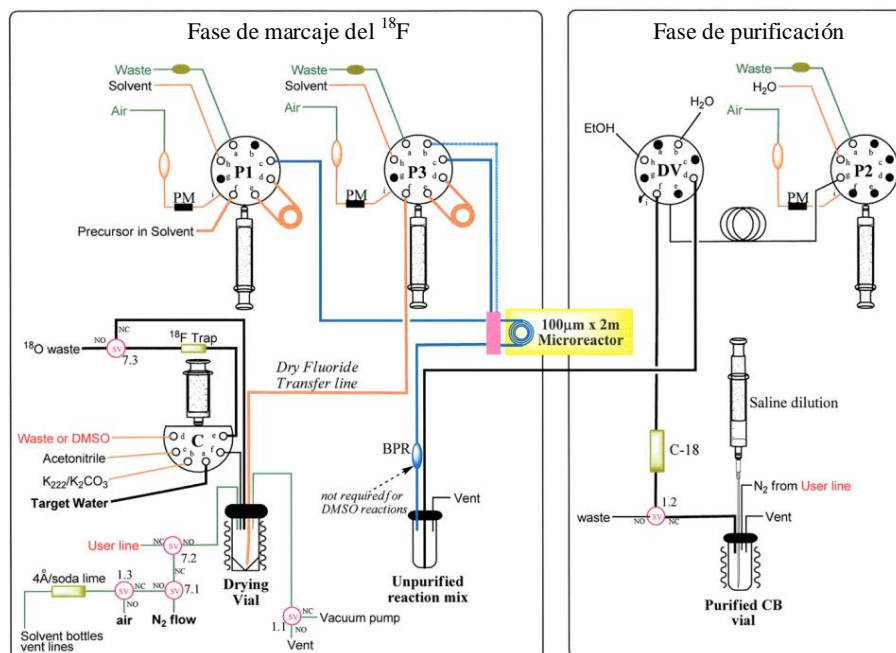


Figura 2.8 Esquema de funcionamiento para el marcaje y la purificación del [^{18}F] mediante el sistema Nanotek [79].

de purificación, compuesto por dos válvulas de ocho vías que impulsan el resultado de la síntesis por un cartucho de C-18 para eliminar el [^{18}F] que no se ha unido a la molécula.

En cuanto al proceso de síntesis, comienza en el módulo de concentración. Después del bombardeo, el agua fluorada que proviene del ciclotrón pasa a través de la columna rellena de resina de preconcentración, quedando los iones de [^{18}F] atrapados en el interior de la misma. El compuesto fluorado se eluye hacia el reactor, previamente precalentado a 110 ° C. La reacción se produce con la ayuda de un flujo de nitrógeno y el vacío se aplica al reactor para facilitar la evaporación del disolvente. El proceso continúa con los siguientes pasos de la síntesis, accionando para ello las diferentes válvulas para cada uno de los solventes.

Una de las ventajas principales de este sistema para la producción de radiofármacos es su capacidad para emplear distintos volúmenes durante su funcionamiento, siendo capaz de evaporar con precisión desde los 100 µL hasta los 2 mL. Además tiene la capacidad de realizar un calentamiento-enfriamiento rápido de la cámara de reacción y sus distintos módulos permiten dispensar múltiples tipos de reactivos. Todo esto hace que nos encontremos ante un sistema muy versátil, capaz de realizar síntesis de gran cantidad de radiofármacos distintos. Sin embargo, en cuanto a los rendimientos de las reacciones, el autor indica que van desde el 60 % al 85 %, lo cual no supone una diferencia sustancial con otros sistemas a nivel macrofluídico, aunque sí reduce considerablemente los tiempos de reacción (consigue realizar algunos procesos en menos de 90 segundos). Por otro lado,

el sistema precisa de numerosas partes, bombas externas y válvulas para poder dispensar los reactivos.

Recientemente han aparecido estudios en los que se busca una mayor integración de este tipo de sistemas, de manera que, se intenta incorporar los módulos necesarios para la síntesis en un único chip. Esto no hace más que confirmar la ventaja que supone conseguir dispositivos fáciles de fabricar y desechables que puedan reducir los costes de fabricación de los radiotrazadores PET.

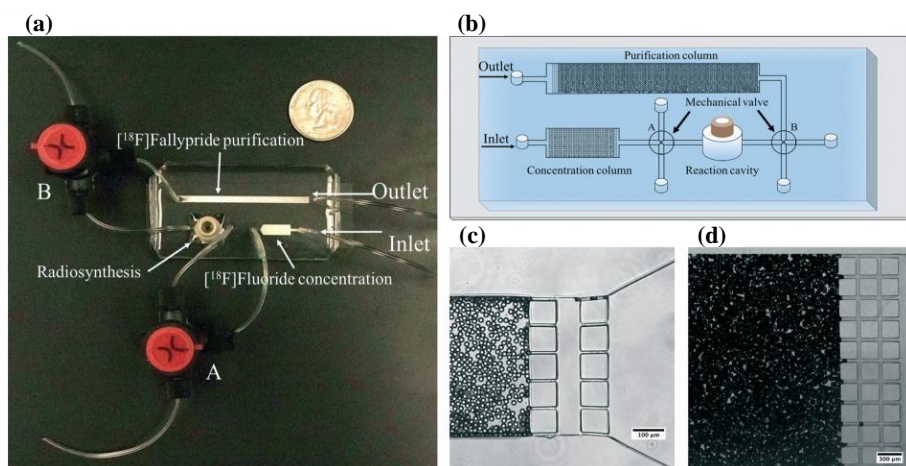


Figura 2.9 (a) Fotografía del chip desarrollado por Zhang. (b) Esquemático del chip empleado para la producción de $[^{18}\text{F}]$ fallypride. (c) Fotografía del cartucho de intercambio iónico con la resina y una separación entre columnas de $10\ \mu\text{m}$. (d) Fotografía del cartucho de purificación con la resina y una separación entre columnas de $40\ \mu\text{m}$ [114].

En este sentido Zhang realiza una plataforma en la que integra los cartuchos de purificación y el reactor en un mismo chip [114]. Para comprobar su funcionamiento consigue realizar el marcaje de $[^{18}\text{F}]$ fallypride, un receptor de dopamina de alta afinidad que, al igual que el $[^{18}\text{F}]$ FDG, se utiliza para estudios PET en humanos. El dispositivo se puede observar en la figura 2.9 (a).

Los chips se fabrican en PDMS, aprovechando sus cualidades de biocompatibilidad y fácil prototipado. Para ello, se utiliza un láser (Heidelberg μPG 101) para crear los moldes, usando capas de $60\ \mu\text{m}$ de espesor de la fotoresina mr-DWL 40. Este molde servirá para realizar los canales y las cámaras. El chip se cierra con una membrana de $200\ \mu\text{m}$, que se adhiere mediante tratamiento de plasma.

Durante el proceso de fabricación se realiza un agujero de $1,5\ \text{mm}$ de diámetro en el centro de la cámara de reacción. En este agujero se pega un conector microfluídico (NanoPort, IDEX), para lo cual, se vuelve a tratar la superficie con plasma para activar la zona y se vierte sobre él PDMS líquido, que hace las funciones de pegamento. Seguidamente se introduce en el horno para completar el pegado. Se colocan varios tubos ($0,02''$ de diámetro interno y $0,06''$ de diámetro externo) en el PDMS, sin ningún conector

microfluídico, que se emplearán para unirlos a unas válvulas de accionamiento manual, por donde se introducen los reactivos y gas nitrógeno para el secado.

El dispositivo integra además los cartuchos de retención y purificación, la figura 2.9 (b) representa las partes principales del sistema. Para ellos se realizan dos cámaras que albergarán las resinas necesarias para cada una de esas fases. Para retener la resina en el interior de la cámara se utiliza una estructura fabricada en PDMS formada por pilares a modo de filtro, con una separación entre pilares de $10\ \mu\text{m}$ para el cartucho de retención (figura 2.9 (c)) y de $60\ \mu\text{m}$ para el de purificación (figura 2.9 (d)). De esta manera se introduce cada una de las resinas por las entradas, quedando atrapadas en el interior de las cámaras.

El proceso de síntesis del $[^{18}\text{F}]$ fallypride es similar al de el $[^{18}\text{F}]$ FDG, aunque el número de pasos a seguir es menor. En el caso de este dispositivo, el autor utiliza la temperatura y el secado con nitrógeno para realizar las reacciones químicas. Con ello se obtienen dosis de $300\ \mu\text{Ci}$ con $19,55\ \text{Ci}\ \mu\text{mol}^{-1}$ de actividad específica y un 98.62 % de pureza radioquímica. La figura 2.10 indica los diferentes pasos que se han seguido para realizar la fluoración.

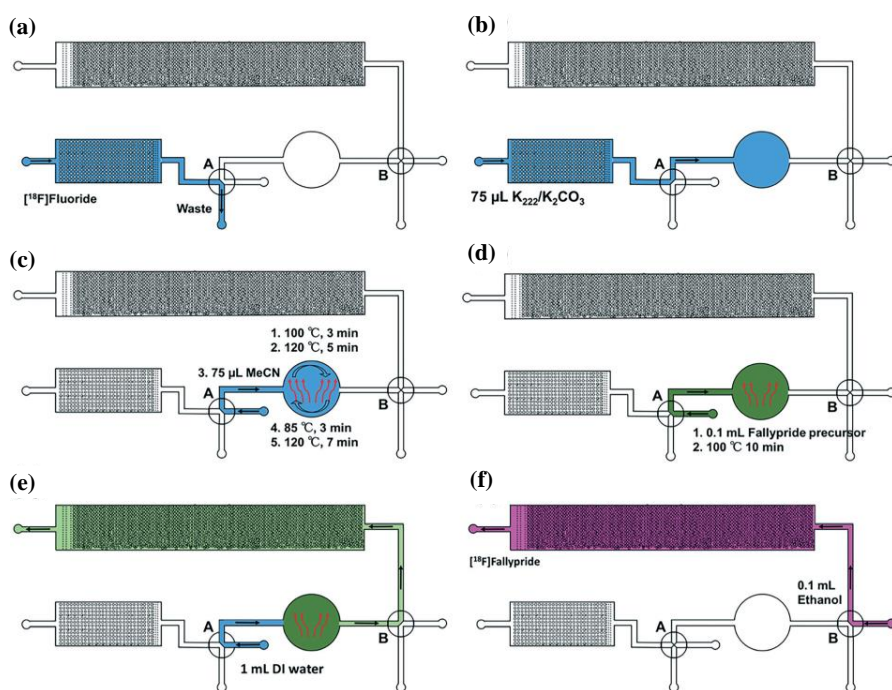


Figura 2.10 (a) Preconcentración del flúor. (b) Elución desde el cartucho de retención a la cámara de reacción. (c) Evaporación y secado con nitrógeno. (d) Fluoración $[^{18}\text{F}]$ fallypride. (e) Filtrado de impurezas a través de la columna de purificación. (f) Elución del producto final $[^{18}\text{F}]$ fallypride.

Sin embargo el autor reporta problemas a la hora de realizar la fase de purificación, no

pudiendo conseguir recuperar gran parte de la actividad que se introdujo en el dispositivo. Se señala que la posible causa sea una interacción a nivel químico entre el PDMS y los iones de [^{18}F], volviendo a incidirse en los problemas que señalaba Elizarov en cuanto a la interacción química entre el flúor y el PDMS.

Por tanto, pese a que es una aproximación adecuada a la integración de los distintos módulos en un único chip, los resultados finales aún no consiguen ser óptimos. Como indica el propio autor, el sistema tiene un proceso de síntesis poco automatizado, ya que, se deben accionar manualmente las válvulas. Esto supone un problema a la hora de trabajar con altas actividades, lo cual hace que las dosis obtenidas no sean válidas para su uso en humanos. Por otro lado el dispositivo tampoco integra una manera automatizada de calentar los líquidos, teniendo que recurrir para ello a su colocación sobre un hotplate.

Existen sistemas que intentan reducir al mínimo la utilización de reactivos, disminuyendo de esta manera el coste prohibitivo y la limitada disponibilidad de radiotrazadores. Por ello, se intentan mejorar los procesos empleando técnicas que aúnen las tecnologías de radiosíntesis de microfluidos con los métodos de microescala de alto rendimiento. Una adecuada posibilidad para cumplir este objetivo es la utilización de procedimientos basados en la electrohumectación o *electrowetting*, que aprovecha el cambio del ángulo de contacto que se forma entre un líquido y un soporte, mediante la aplicación de un campo eléctrico. De esta manera se pueden conseguir desplazar pequeñas cantidades de reactivo a lo largo de un circuito microfluídico [64].

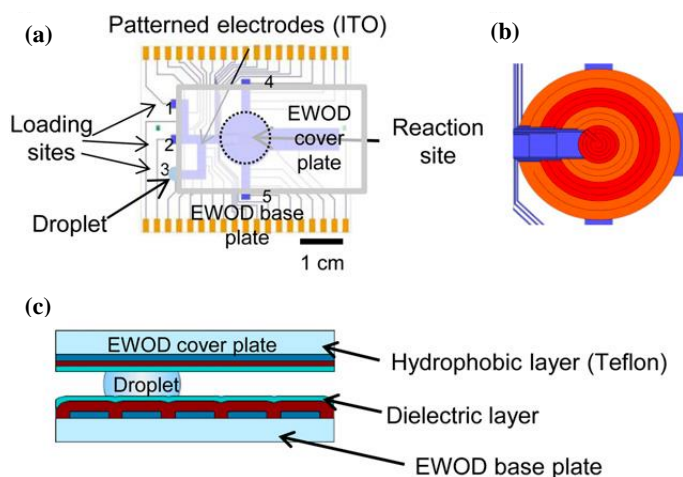


Figura 2.11 (a) Chip EWOD completo con la cámara de reacción y varias entradas para reactivos. (b) Detalle de la cámara de reacción con un calentador y los electrodos para el sensado de la temperatura. (c) Corte transversal del chip EWOD donde se aprecian sus distintas capas [50].

En relación a la síntesis de radiofármacos este tipo de sistemas pueden aportar soluciones muy adecuadas. En el dispositivo desarrollado por Javed se implementa un reactor que utiliza para su funcionamiento la tecnología mencionada [50]. En este informe, se demuestra la síntesis multietapa de 3'-desoxi-3'- ^{18}F -fluorotimidina [^{18}F -FLT] obteniéndose un

alto rendimiento. Para ello, se emplea un reactor microfluídico de electrodispersión sobre dieléctrico o *electrowetting-on-dielectric* (EWOD). Para sintetizar con éxito [^{18}F -FLT] en una plataforma compacta, se identifican varios parámetros que son los más críticos en la radiosíntesis a microescala, como el tiempo de reacción, la concentración de reactivo y las relaciones molares. La figura 2.11 representa las distintas partes del chip EWOD.

El chip EWOD realiza el proceso de síntesis desde el primer intercambio de solventes y la etapa de activación del ion fluoruro [^{18}F] hasta la etapa de purificación final. La reacción de fluoración se realizó en una mezcla de alcohol xílico y dimetilsulfóxido. El producto se purificó en un cartucho de extracción en fase sólida hecho a medida y se sometió a pruebas de control de calidad. El [^{18}F -FLT] purificado se consideró adecuado para estudios de PET de animales pequeños en múltiples ratones con el carcinoma A431.

En cuanto a los resultados obtenidos hay que recalcar que se sintetizó con éxito [^{18}F -FLT] en el microdispositivo EWOD junto con una purificación de extracción en fase sólida fuera del chip, con un rendimiento radioquímico del $63\% \pm 5\%$ ($n = 5$). La muestra obtenida pasó todas las pruebas de control de calidad requeridas por la farmacopea para que los radiotrazadores se inyecten en humanos. Con este método se consiguió la síntesis de varios lotes de [^{18}F -FLT], comenzando con aproximadamente 333 MBq de radiactividad y obteniéndose hasta 52 MBq (sin corrección de desintegración por el decaimiento del reactivo) de [^{18}F -FLT] en la purificación de cartuchos. La actividad específica de dos preparaciones representativas de [^{18}F -FLT] sintetizadas en el chip EWOD se midió en 1800 y 2400 GBq / μmol .

Por lo tanto, el microchip EWOD y el método de síntesis optimizado, representan una plataforma efectiva para sintetizar [^{18}F -FLT] con alto rendimiento y de buena calidad para imágenes PET. Entre sus principales ventajas es interesante señalar que nos encontramos ante una plataforma muy compacta, con pasos de síntesis que son configurables y que es una opción viable para incrementar la flexibilidad en la producción de radiofármacos. La principal salvedad de este dispositivo es que su configuración dificulta la integración de módulos de purificación y retención que son necesarios durante el proceso. Esto implica la utilización de columnas externas y la necesidad de mover los reactivos desde el chip al cartucho de purificación, ya sea manualmente o mediante el uso de bombas de impulsión.

Como se ha señalado, los microrreactores compactos proporcionan métodos de síntesis seguros y reproducibles, que reducen el uso de costosos precursores para el radiomarcaje y hacen un uso efectivo del espacio. El estudio realizado por Kimura pretende desarrollar microrreactores más compactos para la radiosíntesis de los compuestos marcados con [^{18}F], para ello se realiza la radiosíntesis de N-succinimidyl 4- [^{18}F] fluorobenzoato ([^{18}F] SFB) mediante un procedimiento de tres pasos [55].

El autor busca resaltar las diferencias entre realizar la radiosíntesis en un reactor mediante un procedimiento por lotes o con un nuevo método de flujo continuo. Por ello en su publicación se prueban los dos tipos de enfoques, los microrreactores de flujo continuo y de modo discontinuo, para la síntesis en múltiples etapas de radiofármacos. En el caso de los sistemas de flujo continuo, se utilizan varios chips microfluídicos incluidos en el microrreactor. Sin embargo, estos sistemas tienen algunas desventajas, son necesarios múltiples chips microfluídicos, hay grandes volúmenes muertos entre los chips y los sistemas de control son más complejos. Como solución a estos problemas se desarrolla un

método de flujo continuo para una reacción de varios pasos utilizando un solo dispositivo. El chip, en su encapsulado, se puede ver en la figura 2.12 (a).

El microrreactor desarrollado en este estudio, incluido el sistema de bomba, el propio chip, el controlador de calor y el software de funcionamiento, fue fabricado por Shimadzu Corporation figura 2.12 (b). La superficie que se utiliza para asegurar el chip microfluídico se posiciona sobre un hotplate para realizar la reacción. En cuanto a la temperatura, se controla mediante un sensor colocado en el chip.

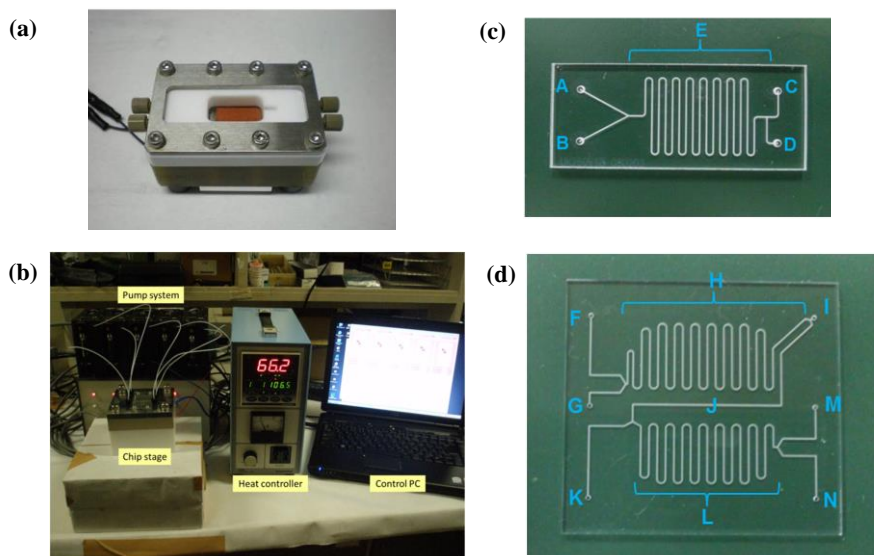


Figura 2.12 (a) Chip completo en el interior de su encapsulado. (b) Sistema de microrreactor desarrollado para este estudio, en la imagen se representan el sistema de bombeo, el encapsulado del chip, el control de temperatura y el PC de control. (c) Diseño del chip para una sola reacción. (d) Diseño del chip para varias reacciones [55].

Los chips se fabrican mediante dos sustratos de vidrio unidos mediante ácido fluorídrico. Los canales y los orificios pasantes se realizaron con la técnica de arenado. Para el chip de un solo paso figura 2.12 (c), el ancho de los canales y la profundidad son de $150\ \mu\text{m}$. La longitud del canal de reacción es de $250\ \text{mm}$, y la capacidad volumétrica es de $5.625\ \mu\text{L}$. Para el chip diseñado para la reacción en tres pasos figura 2.12 (d), el ancho y la profundidad de los canales son iguales al anterior. Sin embargo, en este caso, la longitud del canal del primer paso es de $250\ \text{mm}$ y su capacidad volumétrica es de $5.625\ \mu\text{L}$, la longitud del canal de la segunda etapa es de $50\ \text{mm}$ y su capacidad volumétrica es de $1.125\ \mu\text{L}$ y la longitud del canal de la tercera etapa es de $200\ \text{mm}$ y su capacidad volumétrica es de $4.5\ \mu\text{L}$.

El autor demuestra finalmente que la síntesis de $[^{18}\text{F}]$ SFB usando el chip utilizado para la reacción en tres pasos da un mayor rendimiento y un tiempo de reacción más corto que

el del uso de un reactor discontinuo. La reacción de tres pasos se completó con éxito en cerca de 6 minutos y el rendimiento radioquímico fue de $64 \pm 2\%$ ($n = 5$). Además, se demuestra que la calidad de [^{18}F] SFB sintetizado en este método era igual a la sintetizada por métodos convencionales.

Por otro lado, el autor indica que es necesario rediseñar el chip si se quiere utilizar para aplicaciones comerciales en las que se precise grandes cantidades de solución. Aunque el proceso no supone un gran avance en términos de la pureza radioquímica de los reactivos obtenidos, especialmente si se compara con los procesos actuales, sí que señala como mejorar la eficiencia utilizando el método de la reacción continua.

2.1.2 Módulos de intercambio iónico

Para conseguir un sistema compacto que minimice el área de chip empleado para la realización de la síntesis de radiofármacos es interesante incorporar en un único dispositivo el mayor número posible de módulos. En esta sección se estudia la integración de las resinas de retención y purificación en el interior de chips microfluídicos [91] [89].

En la literatura no es fácil encontrar ejemplos de sistemas que unan en un solo chip la cámara de reacción y los cartuchos de intercambio iónico con unos resultados lo suficientemente correctos para poder ser implementados. Una de las principales dificultades a la hora de afrontar el problema de la integración es de la introducción y la permanencia de la resina en el interior de la columna, ya que hablamos de resinas que están formadas por partículas de pocas micras de diámetro. A nivel macrofluídico este problema se resuelve introduciendo la resina en un tubo que sea capaz de albergar la cantidad estipulada de material y colocando filtros a los extremos de dicho tubo. Estos filtros tienen un tamaño de poro suficientemente pequeño para evitar que la resina escape de su interior. Muchas veces, estas columnas de intercambio de iones se rellenan mediante un líquido que al que se añaden las partículas en suspensión.

A nivel microfluídico existen algunos intentos de integrar este tipo de resinas, varios de ellos se han comentado brevemente en este documento. Uno de estos ejemplos es el desarrollado por Lee [61]. En este dispositivo se integraba el cartucho en el interior de los microcapilares del circuito.

El cartucho se utiliza para concentrar el [^{18}F] que se obtiene después del bombardeo y que viene del ciclotrón con una concentración que suele ser inferior a 1 ppm. Para ello el autor diseña una columna de intercambio aniónico miniaturizada en el dispositivo microfluídico, para concentrar la solución de mezcla de fluoruro [^{18}F] a 100 ppm.

Para que la columna mantenga las partículas de resina en su interior se diseñan unas válvulas diferentes a las del resto del circuito, de tal manera que no impidan completamente el paso del líquido, pero si se cierran lo suficiente para que la resina no salga del canal. Estas válvulas de filtrado se fabrican utilizando un canal microfluídico de perfil cuadrado y la membrana de control. Como se ha comentado, la activación de esta membrana prohíbe el paso de partículas grandes al tiempo que permite que la solución pase a lo largo de los bordes del canal. Usando estas válvulas de filtrado para atrapar las partículas, se obtiene una columna de intercambio aniónico para la concentración de la mezcla de fluoruro.

La figura 2.13 representa una ilustración esquemática de la carga de resina en un módulo de columna. La estructura incorpora un canal microfluídico, cinco válvulas de filtrado

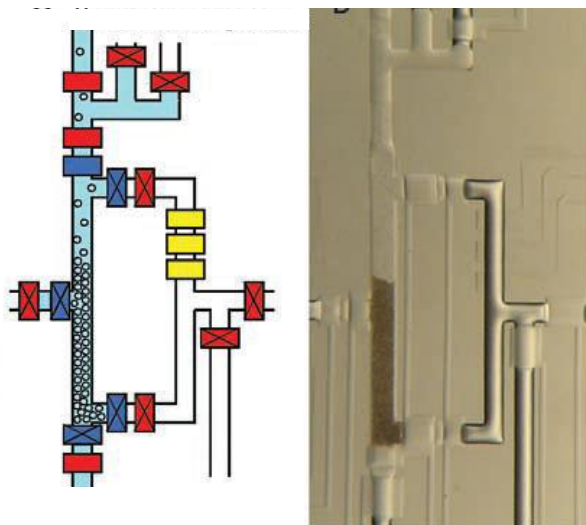


Figura 2.13 Representación esquemática de la columna de intercambio aniónico e instantánea del proceso de carga de partículas en la columna [61].

y cinco válvulas normales. Para rellenar la columna se debe introducir la solución en suspensión de partículas de intercambio aniónico en el módulo de la columna. Para ello las cinco válvulas de filtrado y las cinco válvulas normales operan cooperativamente para atrapar las partículas de intercambio de aniones dentro del canal fluídico. El volumen total de la columna es de 10 nL.

Otro trabajo interesante en relación al proceso fabricación de columnas de intercambio anionico para radiosíntesis es el desarrollado por De Leonardis [?]. En su trabajo informa sobre el diseño, la fabricación y la implementación de un dispositivo microfluídico de vidrio, lleno de partículas de intercambio de aniones reciclables, para la recuperación repetida de iones de fluoruro.

Como se ha comentado, el dispositivo microfluídico se fabrica a partir de vidrio mediante técnicas convencionales de fotolitografía y grabado en húmedo [71]. El diseño presentaba una cámara de 300 μm de profundidad con un orificio de 1,5 mm de diámetro para cargar las partículas de intercambio aniónico, y una sección triangular de 50 μm de profundidad con un orificio de salida de 400 μm . Esta sección triangular se emplea a modo de filtro para evitar que las partículas salgan de la cámara. Las figuras 2.14 (a) y (b) representan el chip desarrollado.

Un tubo de politetrafluoroetileno (PTFE), de 0,3 mm de diámetro interno y 1,58 mm de diámetro externo, se pega en el orificio de entrada utilizando resina epoxi Araldite Rapid y se conecta a una bomba de jeringa (PHD 2000, Harvard Apparatus). El tubo de polieterecetona (PEEK) de 150 μm de diámetro interno y 360 μm de diámetro externo se pega de forma similar a la salida. La cámara se llena con dos tipos de partículas de intercambio aniónico disponibles comercialmente, concretamente Chromabond PS-HCO₃ (100 μm de diámetro, ABX) y Sep-Pak Light Plus QMA (60 μm de diámetro,

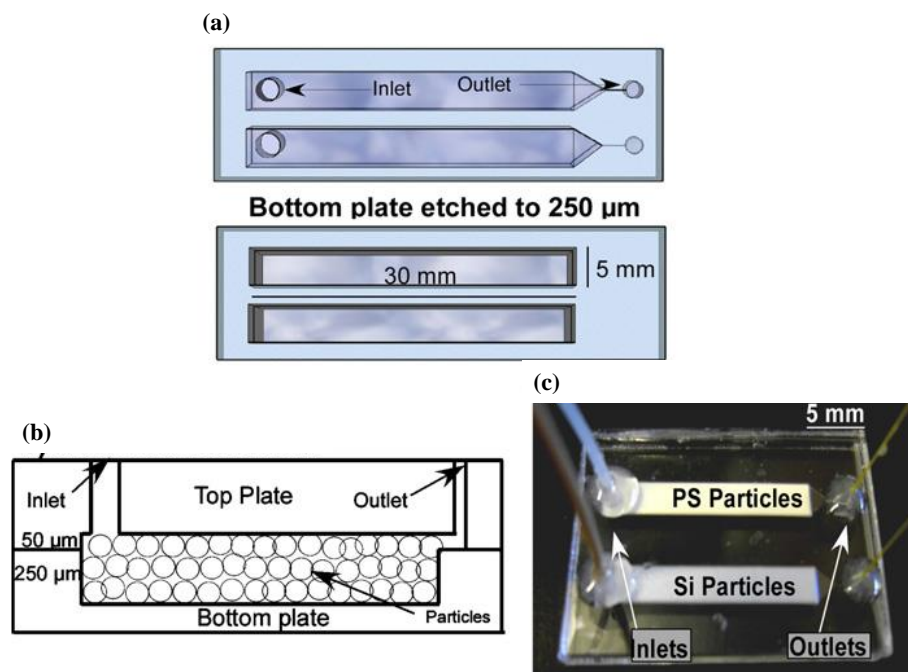


Figura 2.14 (a) Representación esquemática del chip en la que se muestra la parte superior e inferior. (b) Sección transversal del chip. (c) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de Chromabond PS-HCO₃ y la cámara inferior de las partículas de Sep-Pak Light Plus QMA [?].

Waters). Las partículas se introdujeron como polvo seco utilizando una micro espátula y golpeando constantemente el dispositivo en una posición vertical para obtener un nivel de compactación homogéneo. La figura 2.14 (c) representa el chip con las resinas en su interior.

El dispositivo se prueba por primera vez con iones de [¹⁹F] no radiactivos y se demuestra que atrapa y eluye repetidamente más del 95 % de fluoruro en 40 series experimentales sucesivas sin disminución de la eficiencia. Luego se utiliza el mismo dispositivo para atrapar iones de fluoruro [¹⁸F] en 20 experimentos sin una disminución apreciable en el rendimiento. Para el reacondicionamiento se realizó un proceso en el que la resina se enjuaga con NaHCO₃ y posteriormente con 2 mL de H₂O, ambos a un caudal de 500 μL min⁻¹. El procedimiento de reacondicionamiento dura 4 minutos.

Finalmente, los iones fluoruro [¹⁸F] se eluyeron como un complejo K[¹⁸F] / K222, se secaron mediante disolución de acetonitrilo y se hicieron reaccionar con etil ditosilato (EtDT) dando lugar al producto deseado ([¹⁸F] fluoroetiltosilato) con 96 ± 3 % de rendimiento. El tiempo total necesario para el acondicionamiento, la captura, la elución y la regeneración fue inferior a 6 minutos.

Utilizando unos procedimientos muy similares a los ya realizados en el anterior trabajo,

Tarn implementa unos cartuchos empleados para la purificación de radiotrazadores PET, particularmente la [^{18}F]FDG, mediante el uso de extracción en fase sólida [99].

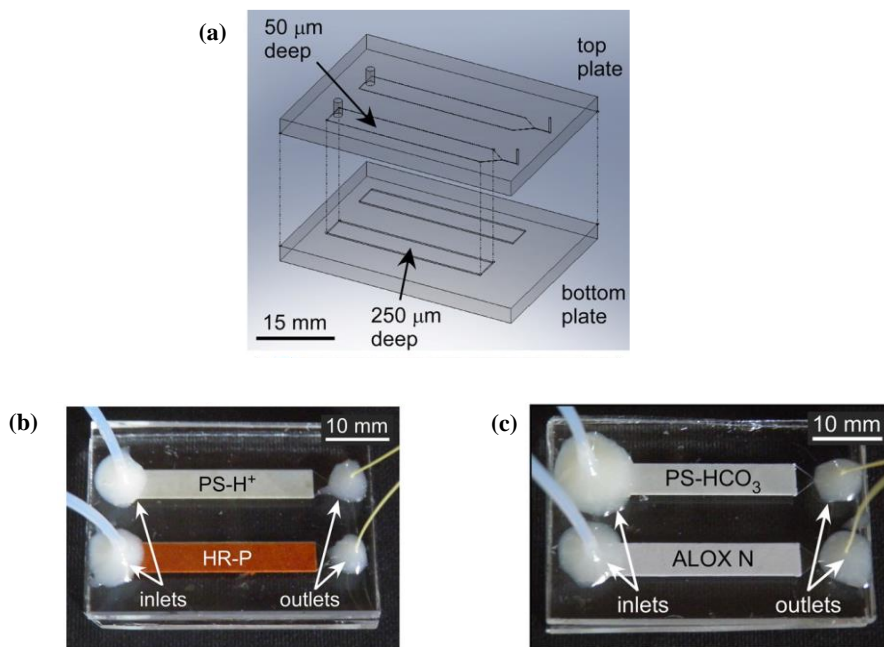


Figura 2.15 (a) Representación esquemática del chip en la que se muestra la parte superior e inferior. (b) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de PS-H + y la cámara inferior de las partículas de HR-P. (c) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de PS-HCO₃ y la cámara inferior de las partículas de ALOX N [99].

En este caso es necesario que las cámaras alberguen mayor cantidad de producto. Por ello, la cámara inferior se fabrica con 250 μm de profundidad, 4.7 mm de ancho y 30 mm de largo, mientras que la cámara superior tiene una profundidad de 50 μm y presenta el mismo diseño con una sección triangular en un extremo. La figura 2.15 (a) representa el nuevo chip para las distintas resinas.

Se emplearon cuatro tipos de partículas de extracción en fase sólida para los estudios de purificación, obtenidas de ABX: PS-H + (100 μm de diámetro) para eliminar las impurezas catiónicas, PS-HCO₃ (100 μ de diámetro) resina de intercambio para impurezas aniónicas, resina de fase normal ALOX N (alúmina, 60-150 μm de diámetro) para impurezas polares, y resina de fase inversa HR-P (50-100 μm de diámetro) para impurezas hidrófobas. Las figuras 2.13 (b) y (c) muestran todas estas resinas en el interior de la las cámaras.

En estas pruebas iniciales, los módulos SPE pudieron producir [^{18}F]FDG con hasta un 90% de pureza radioquímica, y se proponen métodos para aumentar aún más este valor.

Este dispositivo microfluídico es un buen comienzo para la mejora de la purificación de

los bajos volúmenes de [^{18}F]FDG producidos en microrreactores. Sin embargo, claramente se requeriría una mejor optimización para eliminar una mayor proporción de ACY-FDG y así proporcionar la pureza radioquímica del 95 %, que es la que se exige para el uso clínico del radiofármaco.

Un acercamiento más a un proceso fabricación de sistemas microfluídicos que sean capaces de activar iones de [^{18}F], es el desarrollado por Ismail [49]. El autor presenta un método sencillo para activar los iones de fluoruro en un chip microfluídico de o dentro de un tubo de etileno tetrafluoroetileno (ETFE) utilizando el polietireno-imidazolio monolítico ($\text{PS-Im}^+ \text{Cl}^-$). Este nuevo método para activar el fluoruro dentro de una plataforma compacta tiene el potencial de reducir el tiempo total y el espacio de evaporación necesario para sintetizar radifármacos PET.

La mayoría de los sistemas de retención de flúor utilizan partículas atrapadas dentro de un cartucho, que requieren grandes volúmenes (entre los 0.6 mL a 1 mL) de soluciones de catalizador de transferencia de fase para lograr una elución eficiente de más del 90 %. En el caso de los sistemas microfluídicos, el empaquetado de estas resinas dentro de un microcanal en un chip de reducido tamaño puede suponer un desafío. En este trabajo, se opta por emplear polímeros monolíticos directamente dentro del microcanal (cuyas dimensiones son de $150 \times 150 \times 52000 \mu\text{m}$) y dentro de un tubo de ETFE (cuyo diámetro interno es de $400 \mu\text{m}$), para conseguir la concentración de fluoruro sin la necesidad de emplear resinas. La figura 2.16 muestra los dos tipos de dispositivos.

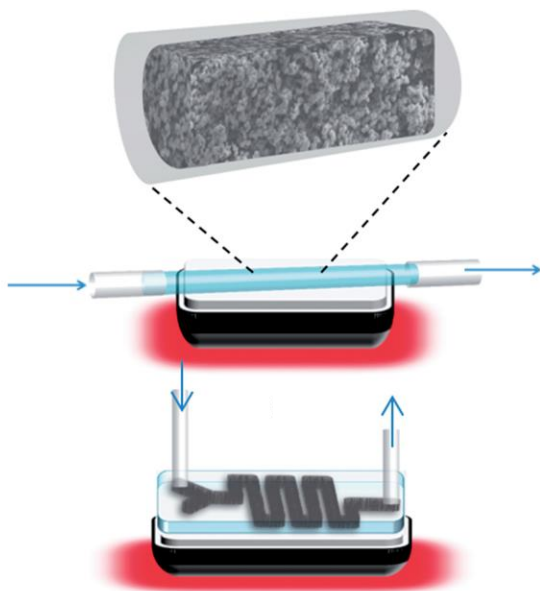


Figura 2.16 Esquema del chip realizado para la fluoración, el precursor y la solución PTC circulan a través de los canales previamente tratados con $\text{PS-Im}^+ \text{Cl}^-$ [49].

Se elige utilizar el polietireno-imidazolio monolítico ya que se sabe que los cationes de imidazolio, debido a su fuerte interacción química, son capaces de atrapar iones de

fluoruro. Para realizar las pruebas se polimeriza este compuesto en el interior del tubo y del canal microfluídico según un procedimiento descrito en [105].

Los iones fluoruro son atrapados en el polietireno-imidazolio monolítico y posteriormente fueron liberados con varios catalizadores de transferencia de fase y bases de carbonato o bicarbonato en volúmenes cercanos a los microlitros. El complejo activado de fluoruro liberado desde el polietireno-imidazolio monolítico se usó para fluorar varios precursores PET conocidos con actividades distintas en un chip microfluídico de flujo continuo sin realizar la destilación azeotrópica. Los rendimientos de fluoración en la condición optimizada para el [^{18}F] FDG, [^{18}F] FLT, 4-[^{18}F]fluoroetilbenzoato y [^{18}F] fallypride fueron 93 %, 96 %, 77 % y 73 %, respectivamente.

Este método consigue que el proceso radioquímico de retención de iones fluoruro se realice en el dispositivo microfluídico sin la necesidad de utilizar resinas de intercambio, dentro de un tiempo de síntesis más corto y con una eficiencia de fluoración que es comparable a los medios convencionales. Sin embargo, para su funcionamiento, el sistema precisa de una plataforma microfluídica externa que sea capaz de realizar la síntesis completa.

2.1.3 Sensores de radiación

El sensado de los procesos que se producen durante la reacción implica una mejora sustancial en el sistema, de tal manera que se incrementa la capacidad que tiene el usuario de recibir información de los distintos pasos que se producen durante la síntesis y así poder interactuar en consecuencia con el dispositivo.

De esta manera la incorporación de sensores de radiación en este tipo de circuitos supone una ventaja a la hora de realizar medidas sobre los reactivos que se encuentran en el interior del chip [87]. En general en la radiofarmacia, para la medición de la actividad se suele utilizar un calibrador de dosis o activímetro, el cual es capaz de medir la actividad radioactiva de un determinado isótopo [103].

Con la proliferación de dispositivos en silicio, diversos estudios [42] han abierto la oportunidad de la integración de pequeños módulos que sean capaz de medir las cuentas por segundo que produce un determinado isótopo (unidad de medida para el cálculo de la radiación ionizante).

Entre estos métodos se encuentran los fotomultiplicadores de silicio o SiPM. En estos dispositivos se genera una fuerte polarización en inversa y tienen la capacidad de detectar la luz de baja intensidad. De esta forma son capaces de generar un efecto de avalancha Geiger cuando se detecta un fotón, generando así una fotocorriente. Cuanto mayor es la cantidad de fotones que impacta sobre los SiPM, mayor será fotocorriente generada. Debido a su funcionamiento, su reducido tamaño y la posibilidad de integrar varios de estos sensores en un array, surge la posibilidad no solamente de recibir un valor numérico de radiactividad del solvente, sino incluso, de conseguir identificar en qué lugar del chip se encuentra el reactivo en cada momento del proceso, detectando distintos valores de radiación de la muestra en cada uno de los sensores del array. De esta manera, se obtiene información acerca del punto de la síntesis en que nos encontramos y el sistema puede de actuar según las necesidades del proceso. A continuación se muestran algunos ejemplos

de los avances que se han producido en la medición de de radiactividad en plataformas microfluídicas.

Uno de los trabajos más interesantes y que ha sido especialmente útil para el desarrollo del dispositivo propuesto por la presente tesis, es implementado por Taggard [97]. En este trabajo se presenta la utilización de fotomultiplicadores de silicio para la detección de radiactividad en el interior de un chip con canales microfluídicos. Estos chips se fabrican en diferentes sustratos (como pueden ser el PMMA o el policarbonato, entre otros) de manera que se pretende estudiar la inferencia de estos materiales en el funcionamiento del sensor. Además se realiza un estudio de cómo la distancia con respecto al sensor influye en la cantidad de cuentas que llegan al mismo. Podemos ver el diseño propuesto en la figura 2.17.

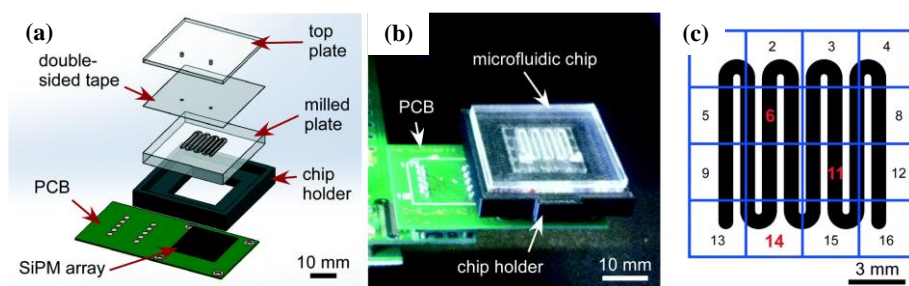


Figura 2.17 (a) Esquema del chip con sus distintas partes. (b) Fotografía del chip microfluídico sobre el array SiPM. (c) Distribución de los sensores bajo el chip [97].

Para realizar las pruebas se utiliza un pequeño array de fotomultiplicadores de silicio para medir radiofármacos PET. En el trabajo realizado se observa una linealidad entre el número de cuentas generadas por el radiofármaco y la radiactividad que se introdujo en el chip. Los rangos de actividad empleados van desde los 0,01 a los 100 MBq.

En su estudio los autores demuestran cómo este tipo de sensores es capaz de detectar la radiación a través de materiales opacos, pese a que este tipo de dispositivos basan su funcionamiento en la detección de partículas lumínicas. Esto se debe a que los SiPM son capaces de localizar los positrones y los rayos gamma que se producen durante la desintegración de los radioisótopos. Hay que destacar que entre los materiales empleados en este estudio no se encuentra el PDMS y que el líquido se mantiene estático en el canal microfluídico, de tal manera que no existe diferencia significativa entre los valores de radiación obtenidos en los diferentes píxeles.

Por otro lado, Dooraghi diseñó un sistema automatizado de alícuotas, denominado ARAS [25]. Las alícuotas empleadas son pequeños volúmenes de radioactividad que se emplean para dispensar radioisótopos de emisión de positrones, particularmente centrado en el ^{18}F . El sistema ARAS se muestra en la figura 2.18.

El autor utiliza una doble capa de fotodiodos P-i-N para la detección de una muestra radioactiva en un tubo o en un canal radioactivo. Las pruebas realizadas pretendían comprobar la influencia de la distancia entre la muestra y el sensor. Así se observó que el

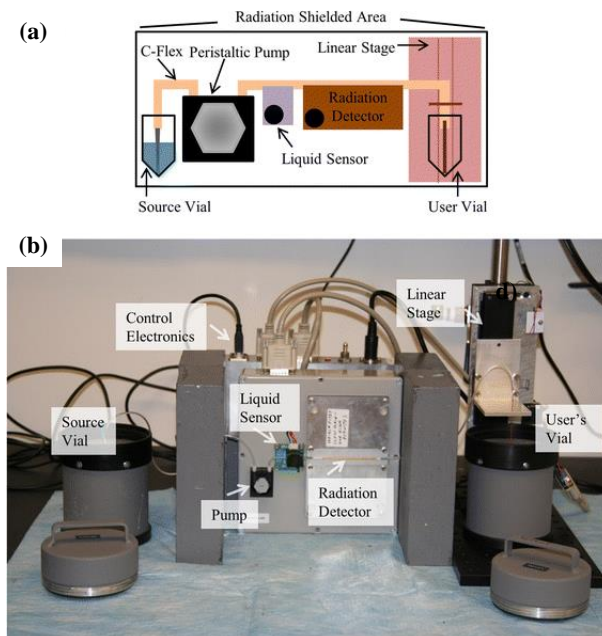


Figura 2.18 (a) Esquema del sistema ARAS con sus distintos módulos. (b) Fotografía del sistema completo [25].

fotodiodo más cercano a la muestra respondía adecuadamente a la excitación producida por los rayos gamma y los positrones. Sin embargo, un segundo fotodiodo situado a una distancia de 3 mm del anterior, solamente era capaz de detectar los rayos gamma. Esto se debe a que las partículas beta recorren distancias menores que los rayos gamma, especialmente cuando se encuentran en su camino con un material como el silicio.

Esta publicación es muy útil para acercarse al funcionamiento de este tipo de dispositivos como detectores de radiación. Además demuestra la influencia de la distancia y de los diferentes sustratos sobre los estos sensores.

En otro artículo, Convert desarrolla un chip microfluídico que es capaz de controlar la actividad radiológica en ratones a tiempo real [23]. Para ello elaboró un proceso de fabricación para realizar canales microfluídicos sobre un fotodiodo P-i-N sin interferir en el funcionamiento de estos sensores. Con estos canales se tiene una separación de $9\ \mu\text{m}$ entre el detector y la muestra. En la figura 2.19 se observa el sistema propuesto.

Con la realización de estos canales se mejora la eficiencia de estos detectores, ya que como se ha comentado anteriormente la distancia a la muestra es un factor a tener en cuenta a la hora de realizar mediciones. Finalmente los resultados obtenidos de $[^{18}\text{F}]$ y $[^{11}\text{C}]$ son muy cercanos a los valores teóricos de estos radioisótopos.

2.1.4 Métodos de transferencia de calor

Para realizar eficazmente la reacción, el reactor debe transferir de calor rápidamente a los reactivos alojados en su interior. El calentamiento preciso de pequeños volúmenes es una

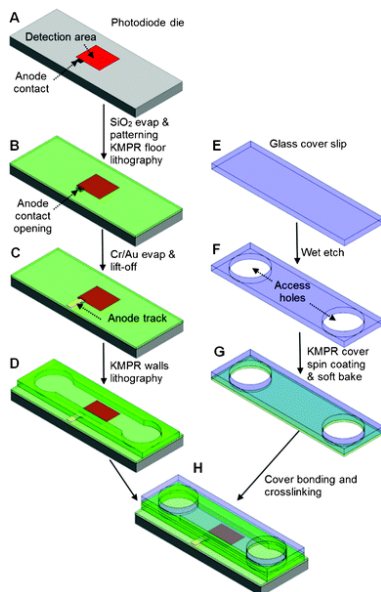


Figura 2.19 Esquema con las diferentes capas del sistema, donde se representa el posicionamiento de los canales microfluídicos sobre el sensor de radiación [23].

ventaja significativa en los sistemas microfluídicos y ha demostrado mejorar el tiempo de reacción y el rendimiento en las síntesis de trazadores PET. En esta sección se realiza un repaso de algunos de los distintos métodos que existen para realizar la transferencia de calor al interior de los microrreactores [78].

El calentamiento puede llevarse a cabo mediante calentadores resistivos o radiadores [35]. Algunos autores proporcionan resultados simulados de microcalentadores que son capaces de proporcionar mejoras en la distribución de la temperatura aumentando la integración [104]. Para optimizar este tipo de calentadores se debe estudiar su geometría ya que los microcalentadores deben estar diseñados para garantizar el bajo consumo de energía, la reducción de las pérdidas energéticas y la distribución uniforme de temperatura.

Como se ha comentado, el PDMS se utiliza habitualmente en aplicaciones microfluídicas. Por esta razón, es interesante la integración de calentadores en el interior o en zonas cercanas a las cámaras de reacción de este tipo de chips. Siguiendo este razonamiento, Wu presenta la fabricación de un microcalentador y un sensor térmico colocado en el interior de los canales de PDMS [106]. Este procedimiento se consigue mediante la introducción de pintura de plata en el dispositivo a modo de conductor eléctrico. Así, después de fabricar los microcanales, la pintura de plata se inyecta en el canal y, seguidamente, el chip se calienta para evaporar el solvente que contiene. Tras el calentamiento las partículas de plata residuales que permanecen en el canal formarán un hilo conductor que permitirá el paso de la corriente.

Con este método se realizan dos canales posicionados en paralelo, de tal manera que uno del de estos canales se utiliza como calentador y el otro se utilizará para medir

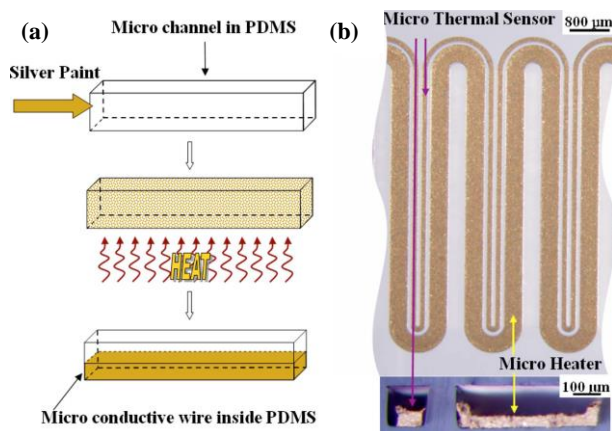


Figura 2.20 (a) Esquema del proceso de fabricación del microcalentador conductivo en el canal de PDMS. (b) Imagen del dispositivo en la que se aprecian el canal para calentamiento y el canal para sensado [106].

la temperatura. Así, el canal de menor anchura se emplea como sensor, midiéndose la variación de valor resistivo que se produce sobre el metal cuando se ve sometido al calor que desprende el calentador. La figura 2.20 representa este dispositivo.

El empleo de microondas para el calentamiento de reactores también es una práctica muy extendida en la literatura. De hecho, las síntesis radioquímicas a partir de microondas se llevan reportado durante varias décadas. El principal motivo del uso de este tipo de calentamiento es la reducción de los tiempos de reacción durante el proceso, lo cual supone una ventaja especialmente en el marcaje de radioisótopos de semivida corta. También hay que destacar que una de las mayores complicaciones es la integración de este tipo de sistemas en las plataformas microfluídicas, debido esencialmente al reducido tamaño de estas últimas.

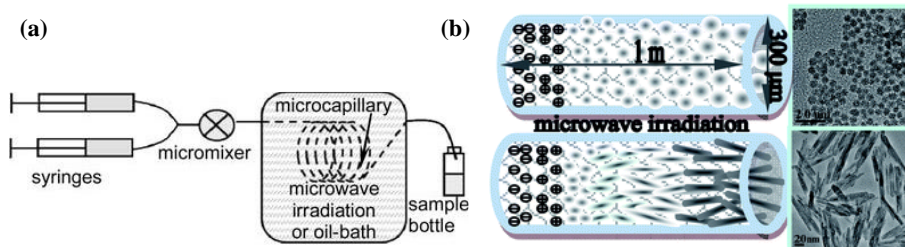


Figura 2.21 (a) Esquema del proceso de calentamiento mediante la aplicación de microondas. (b) Imagen del crecimiento de los nanocristales de $\text{LaF}_3 / \text{LaPO}_4 \text{ Ce, Tb}$ [116].

Aprovechando estas ventajas, Zhu diseña un reactor microfluídico calentado por radiación de microondas para preparar nanocristales de $\text{LaF}_3 / \text{LaPO}_4 \text{ Ce, Tb}$ empleando para

ello etilenglicol como disolvente [116]. De esta manera, combina el efecto de esta radiación con las ventajas derivadas de la utilización de un reactor microfluídico y consigue acelerar la etapa de nucleación y estimular el crecimiento de los nanocristales. La figura 2.21 muestra el esquema del sistema y la formación de cristales. Con este procedimiento mejora la eficacia de la reacción, aumentando las propiedades luminiscentes del producto.

Otro método de calentamiento destacable por su utilización en microsistemas es el empleo de células de Peltier. Como se ha mencionado anteriormente, el calentamiento a alta velocidad de volúmenes pequeños supone una ventaja significativa en estos dispositivos. Por otro lado, también es posible que algunas aplicaciones precisen de un enfriamiento rápido y efectivo. En este sentido, las células Peltier se convierten en una buena solución para muchos de estos sistemas. Como es conocido, el efecto Peltier es un efecto termoeléctrico que se produce por una conversión directa de la diferencia de voltaje a temperatura. En estos dispositivos el calentamiento o el enfriamiento viene determinado por el signo del voltaje aplicado.

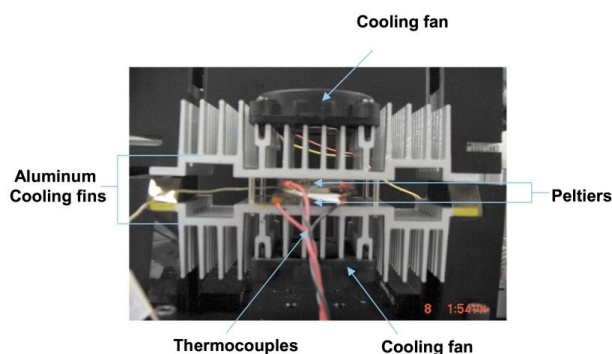


Figura 2.22 Imagen del reactor de PCR basado en células Peltier [109].

Existen numerosos ejemplos del uso de estos calentadores en dispositivos microfluídicos. Uno de ellos, es el desarrollado por Yang [109]. En este estudio, se construyó y probó un reactor para la realización de una reacción de cadena de polimerasa o polymerase chain reaction (PCR). Para llevar a cabo este tipo de reacción es necesario realizar numerosas series de cambios de temperatura, intentando que las transiciones entre los distintos valores de temperatura se produzcan lo más rápidamente posible.

Los canales de microfluídica se fabricaron con forma de serpentin en policarbonato (con un ancho de canal de 0,75 mm) y la potencia de salida de las dos células de Peltier es de 18,1 W. El dispositivo microfluídico se colocó entre las dos células para poder realizar la reacción correctamente. La figura 2.22 muestra una imagen en la que se pueden identificar las partes del sistema. Este chip se utilizó para la detección del fragmento del gen K12 específico de *Escherichia coli* (*E. coli*).

2.1.5 Métodos de mezclado de reactivos

En muchos procesos en los que se emplea la microfluídica es preciso realizar el mezclado rápido y efectivo de los reactivos para conseguir un producto adecuado. En ocasiones este mezclado no es sencillo debido principalmente a los reducidos tamaños y volúmenes que se utilizan en tecnología MEMS.

Atendiendo a la manera en que se realiza el proceso se pueden distinguir dos tipos de mezclado: activo y pasivo. El proceso de mezcla microfluídica se puede considerar activo, cuando se aplica una fuerza externa para agitar el fluido, o pasivo, cuando el mezclado se produce por un aumento en el área y el tiempo de contacto de los líquidos a través de distintas configuraciones de los microcanales [60].

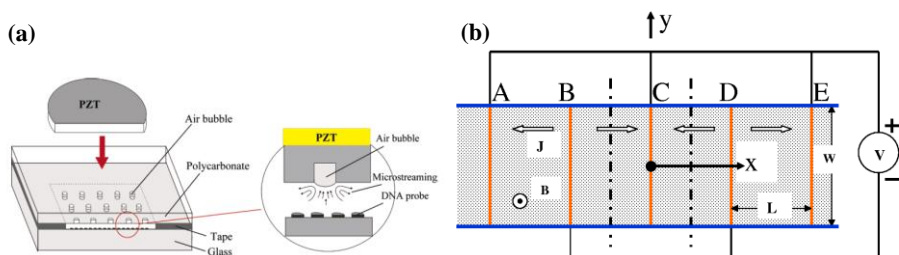


Figura 2.23 (a) Mezclado que utiliza los ultrasonidos para mover las burbujas de aire en la microcámara. (b) Vista superior esquemática del mezclador. Los electrodos se conectan alternativamente a los polos de la fuente de alimentación para generar el campo magnético [60].

En cuanto a los mezcladores activos se pueden usar numerosas técnicas para obtener la mezcla, entre las que destacan: métodos acústicos, dielectroforésis, pulsos de tiempo electrocinéticos, perturbaciones en la presión, electrohidrodinámicos, magnéticos o térmicos.

En la actuación acústica, encontramos autores que han estudiado el uso de corrientes ultrasónicas para obtener la mezcla [66]. En el caso de este dispositivo, se utiliza un disco piezoeléctrico para mover burbujas de aire en la microcámara a una frecuencia de 5 kHz. El tiempo de mezcla es de 6 s para una excitación pico a pico de 40 V. En la figura 2.23 (a) se observa el dispositivo mencionado. El efecto del flujo magneto-hidrodinámico es utilizado por algunos autores para fabricar micromezcladores [15]. Para este micromezclador se usan campos eléctricos y magnéticos de CC o CA para generar fuerzas de Lorentz en el interior de la cámara. Estas fuerzas magnéticas inducen flujos hidrodinámicos en la solución y mezclan el fluido en la cámara. La figura 2.23 (b) representa este diseño.

Los micromezcladores pasivos no necesitan partes móviles ni energía para obtener la mezcla. Este tipo de dispositivos suelen utilizar la forma de los canales para lograr su objetivo. En estas configuraciones se pueden emplear varias técnicas de diseño, como la intersección de canales, canales en zig-zag, serpentes o la introducción de barreras. Como ejemplo, se puede destacar el trabajo de He, que emplea canales de intersección para obtener la mezcla de solventes [43]. El autor explica el efecto que se produce sobre el fluido en un mezclador de picolitros de volumen. En su estudio fabrica canales en

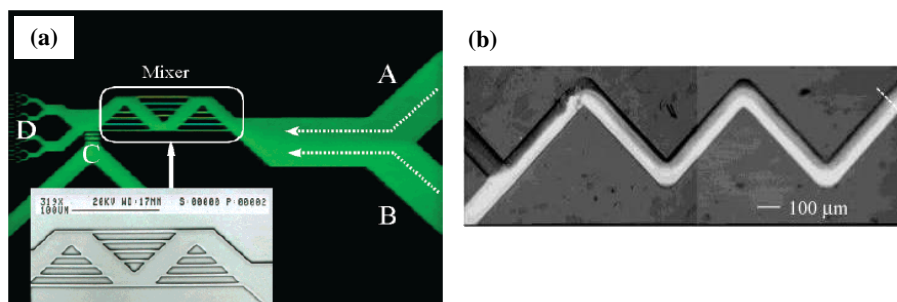


Figura 2.24 (a) Fotografía del diseño que emplea la intersección de canales para la mezcla de volúmenes cercanos a los picolitros. (b) Fotografía con microscopio del canal en zigzag con 100 μm de ancho y 800 μm de longitud en cada tramo [43] [73].

intersección de varias longitudes, empleando una distribución de ancho bimodal, como se observa en la figura 2.24 (a). En el diseño, todos los canales son paralelos a la dirección del flujo con un ancho de 5 μm .

Por otro lado, Mengesaud realizó un estudio sobre la eficiencia de mezcla en un microcanal con una configuración en zigzag [73]. Los resultados muestran que para $Re = 0.26$, la eficiencia de mezcla aumentó del 65 % al 83.8 % a medida que la relación de geométrica entre la longitud y el ancho de canal (s/w) se incrementó de 1 a 8. El canal mencionado se muestra en la figura 2.24 (b).

2.2 Aportaciones

En la presente tesis se incluyen numerosas aportaciones sobre lo ya existente que mejoran las prestaciones y el coste de fabricación de este tipo de sistemas.

Haciendo un análisis de la literatura relacionada con el estudio se pueden destacar una serie de características en estos dispositivos que permitirían mejorar su eficiencia. En cuanto al control de reactivos, la mayoría de los modelos emplean varias capas de control que aumentan la complejidad del dispositivo o sistemas de impulsión externos que incrementan el área y la complejidad del sistema. También es necesario escoger un material de fabricación para los chips microfluídicos adecuado, por ello es necesario comprobar el grado de interacción del PDMS con el fluoruro que deportan varios autores.

En cuanto a la integración de los distintos módulos, se hace necesario el diseño de reactores con volumen suficiente para obtener dosis de radiofármacos que puedan ser inyectadas en humanos y es interesante mejorar la integración de las resinas de intercambio iónico que se emplean en estos procesos. Por otro lado, es interesante la inclusión de un dispositivo de transferencia de calor y los sensores necesarios para aumentar la inteligencia del sistema. La automatización del proceso ayudará a mejorar los tiempos de reacción, el rendimiento y la eficiencia del dispositivo.

A la vista de estos problemas a resolver finalmente se ha optado por el empleo del PDMS como material para la fabricación de los distintos chips microfluídicos. Su uso se

justifica por su biocompatibilidad, lo cual lo hace ideal para aplicaciones biológicas, y por otras propiedades como su elasticidad y la capacidad de realizar finas membranas porosas a los gases.

También se ha elegido por un sistema de impulsión basado en aire comprimido como opción más viable y efectiva. Al no precisar de partes móviles, aumenta la seguridad del sistema al disminuir los equipos que pueden ser contaminados por radiación. Además, permite que el sistema se pueda adaptar fácilmente a los centros médicos donde se suministra y así mejorar la eficiencia del fármaco reduciendo el tiempo de transporte. El sistema de válvulas propuesto, basado en actuadores lineales, se adapta perfectamente a este tipo de impulsión de fluidos, siendo una manera eficaz de desplazar los líquidos a los distintos módulos del chip.

Una de las contribuciones principales de esta tesis es la integración de los módulos de intercambio iónico en el interior del chip microfluídico. Con esto se consigue un laboratorio completo en un chip de reducido tamaño. También favorece la eliminación de agentes radiológicos contaminantes al poder desecharse tras su uso. Esto también favorece la producción en serie de radiofármacos.

Se ha dotado al sistema de la inteligencia necesaria para controlar adecuadamente los diferentes procesos que permiten llevar a cabo la síntesis del radiofármaco. Para ello, se incorporan un conjunto de sensores y actuadores. El dispositivo se controla mediante un sistema scada que es capaz de interactuar con los distintos módulos y que se ha programado manera lo suficientemente intuitiva como para que sea manejado por personal médico.

3 Estructura del sistema propuesto

En el presente capítulo se realiza una explicación en profundidad de las características principales del sistema propuesto para la síntesis de radiofármacos. En cada uno de sus apartados se hace un estudio de los módulos principales que lo componen y los pasos a llevar a cabo para fabricarlos. Se hará hincapié en las distintas partes del chip microfluídico compuesto por los canales y las cámaras de reacción, de retención y de purificación. Se destaca también el sistema de transferencia de calor y de vacío que será imprescindible para llevar a cabo la reacción. También se explicará el funcionamiento del control de flujo de reactivos que emplea válvulas basadas en solenoides para llevar a cabo su función. Por último, se detallará la utilidad del sensor de radiación que se incorpora y que permite la monitorización del proceso de síntesis.

3.1 Estructura del circuito microfluídico

En esta sección se estudian las características más reseñables chip microfluídico para la generación de radiofármacos, explicando el funcionamiento de los primeros modelos y como los sucesivos cambios producidos en estos prototipos dieron lugar a la estructura final del dispositivo. Además, se explicará detalladamente el proceso de fabricación de este dispositivo final. Para llevar a cabo correctamente el proceso de fabricación del chip es necesario cumplir con una serie de requisitos que permitirán solventar los problemas derivados del proceso que se pretende llevar a cabo. La figura 3.1 muestra los requisitos principales que hubo que cumplir para la integración de todo el sistema de generación de radiofármacos.

La elección del material del chip fue una de las primeras decisiones a tomar. Existe un gran abanico de posibilidades al respecto dependiendo del tipo de procesos que se llevan a cabo en el interior del chip. También se deben tener en cuenta las necesidades de integración, tanto de módulos de procesamiento, como de sensores y actuadores alrededor de la plataforma. En este sentido la elección del PDMS como material de fabricación se justifica debido a múltiples razones. Por un lado, sus propiedades elásticas demuestran ser una de las mejores opciones para la integración del sistema de válvulas escogido. Por otro

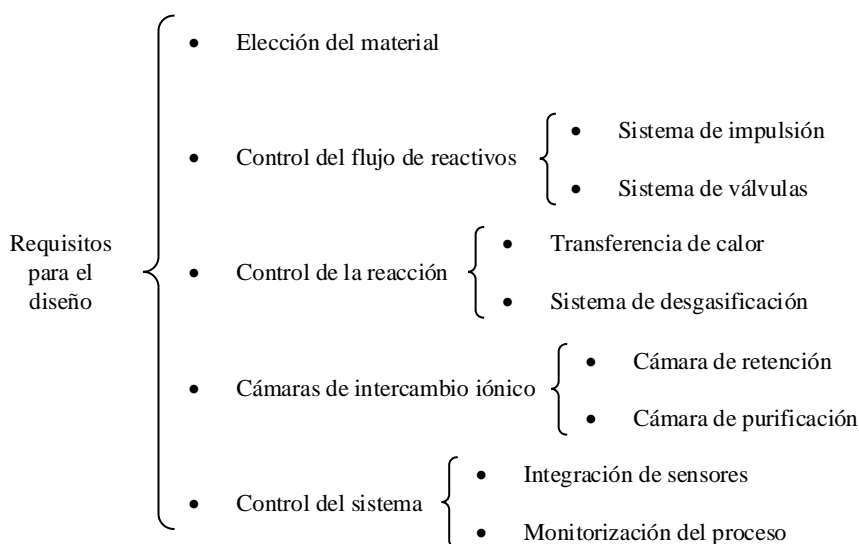


Figura 3.1 Esquema de los distintos requisitos y decisiones a tomar para realizar la estructura del chip.

lado, su capacidad de permeabilidad a los gases permite extraer sustancias volátiles del interior de la cámara de reacción diseñada, lo cual hace que sea la elección perfecta para la fabricación de reactores. Destaca además por otras propiedades como su biocompatibilidad, sus excelentes cualidades ópticas, debidas a su transparencia, y la sencillez en el proceso de fabricación de estos dispositivos. Las propiedades anteriormente descritas se emplean para implementar el chip microfluídico que se describe a lo largo del capítulo. La figura 3.2 indica las mejoras más importantes en la estructura del chip propuesta.

Aunque el chip microfluídico es la parte principal del sistema, también será imprescindibles los sensores y actuadores que se emplean para realizar la síntesis del radiofármaco. Es, por lo tanto, fundamental el control sobre los distintos reactivos que intervienen en el proceso. Era necesario elegir un sistema de impulsión que ofreciese las mayores ventajas posibles. Entre las diferentes opciones existentes se decidió optar por la utilización de aire comprimido para impulsar los líquidos al interior del chip, frente a otro tipo de sistemas basados en bombas peristálticas o de jeringa. Al emplearse sustancias radioactivas, el uso de gases a presión aumenta considerablemente la seguridad del sistema al no necesitar de partes móviles para desplazar los fluidos. Además, facilita en gran medida la incorporación del dispositivo a centros médicos u hospitales que disponen de puntos de suministro de aire comprimido. El sistema de válvulas empleado, casa perfectamente con este tipo de sistema de impulsión que solo necesita la presión de un gas para su uso. El funcionamiento de esta válvula se basa en la presión ejercida por el vástago de un solenoide sobre un punto concreto del canal microfluídico para cerrar el paso del fluido. De esta forma, se consigue un control total sobre todos los reactivos que intervienen en el proceso, siendo esta una de las aportaciones principales de esta tesis. Esta parte del estudio se explica en

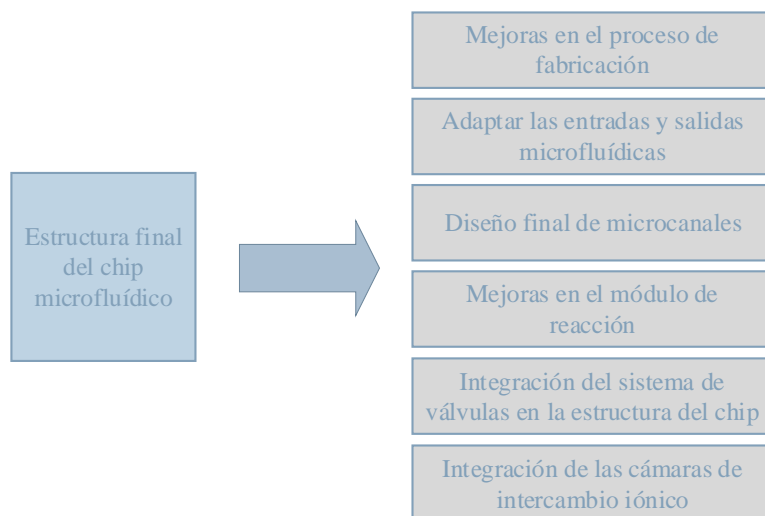


Figura 3.2 Mejoras y adaptaciones que se pretenden llevar a cabo en la estructura final del chip microfluídico propuesto.

el apartado 3.2.

Para conseguir realizar el proceso de reacción del radiofármaco intervienen varios factores. Por un lado se precisa de una cámara de reacción que en este caso incorpora una membrana lo suficientemente delgada para permitir la extracción de gases durante el proceso. Por lo tanto, es necesario incorporar también un método de calentamiento controlado y un dispositivo que facilite la salida de las sustancias volátiles de la cámara, con la ayuda del vacío. Para todo ello, el presente estudio incorpora la aportación de un ingenioso dispositivo que consigue realizar ambas funciones al mismo tiempo, reduciendo al máximo el espacio empleado para tal fin. El apartado 3.3 explica el proceso de fabricación y funcionamiento de dicho dispositivo.

Otra de las novedades que se incluyen en esta tesis es la integración de los módulos de intercambio iónico en el interior de un único chip microfluídico. Esto ha supuesto una aportación fundamental, ya que se consigue un sistema compacto con múltiples ventajas. Entre ellas, se puede destacar la reducción de costes producida por la integración de todos los módulos en un dispositivo de apenas 14 cm² de superficie. Además, disminuye las posibilidades de contaminación producida por la radiación al conseguirse un sistema en el que todos los elementos en contacto con agentes radioactivos pueden desecharse al mismo tiempo. Esto supone un gran avance en la eliminación de los productos contaminantes y favorece la producción en serie, pudiéndose comenzar otra síntesis simplemente cambiando el chip. El método de integración se explica en el apartado 3.4.

Por supuesto, el control sobre todos los procesos que se desarrollan es fundamental. Por ello, no solo se aporta un sistema de control completo para poder realizar la síntesis sino que, además, se incluyen dispositivos que permitirán monitorizar el estado de la

reacción en cada instante a partir de la radiación desprendida por los agentes que en esta intervienen. Esto supone una contribución muy importante, ya que permite emplear sensores de radiación para conseguir aumentar el control sobre el sistema mejorando el producto obtenido. El sensor empleado y su integración se explica en el apartado 3.5.

A continuación, se explica el proceso que se ha seguido para llegar al modelo final del dispositivo empleado partiendo de los primeros prototipos que sirvieron como base.

3.1.1 Primeros modelos

En este apartado se va a realizar un repaso a través de los chips de PDMS que se fabricaron para las primeras pruebas del dispositivo. Estos primeros prototipos pretendían cumplir diversos objetivos. Por un lado, era importante familiarizarse con las distintas técnicas de fabricación de dispositivos microfluídicos basados en PDMS, para ello, era necesario comenzar la investigación con diseños muy parecidos a lo ya existente. De esta manera sería posible, de forma más sencilla, encontrar las ventajas y carencias de los modelos actuales y poder diseñar nuevos sistemas que se adapten a las necesidades propuestas.

Por otro lado, se comienzan a probar los sistemas de actuación que se van a emplear en el proceso. En este sentido, se empiezan a realizar las primeras pruebas del sistema que controlará el flujo de reactivos. Aunque se explicará a fondo en apartados posteriores, se puede adelantar que consiste en una serie de actuadores lineales controlados o solenoides que ejercen presión sobre determinadas zonas del canal microfluídico. La idea consiste en poder cerrar o abrir el paso de líquido por los canales mediante la presión ejercida, haciendo posible el control de los fluidos en el interior del circuito. Este sistema de válvulas es una de las aportaciones mas interesantes de este trabajo y es esencial para el funcionamiento del prototipo final. Es por ello que, los primeros chips, se encaminaban a la realización de pruebas del funcionamiento de estos actuadores lineales como válvulas.

También hay que indicar que el sistema se divide en diferentes módulos (reactor, canales, cámaras de intercambio iónico...) que finalmente se integran en un único dispositivo. Por ello, en muchos casos, se realizan diseños para implementar pruebas con un solo módulo, obviando el resto, de esta manera se simplifica el proceso de fabricación y permite ser mas efectivo en la comprobación del funcionamiento de la estructura escogida.

A medida que se avanza en la investigación, comienzan a desarrollarse nuevas técnicas de fabricación y los modelos empiezan a diferir cada vez mas de lo que se puede encontrar en la literatura. De esta manera, los prototipos se hacen cada vez mas complejos y adaptados a las necesidades que surgen.

Uno de los primeros chips que se desarrolló consistía en una serie de canales y una cámara de reacción. El diseño recuerda inevitablemente al sistema desarrollado por Elizarov [27]. Como se ha comentado, se pretendía replicar lo existente como manera de adecuar el futuro diseño a las necesidades propias del proyecto. En el caso del chip que se muestra en la figura 3.3, se pretendía comprobar si era posible realizar el modelo que propone el autor con las técnicas de fabricación de que se disponía. Así, se realizaron los moldes necesarios mediante el uso de la fotoresina SU-8 en sustrato PCB y posteriormente se procedió a la realización de los dispositivos de PDMS mediante el uso de dichos moldes. Las técnicas de fabricación empleadas son similares en todos los chips diseñados y se abordaran de

manera mas profunda en el Apéndice A, en el que se explica el proceso de fabricación del chip final.

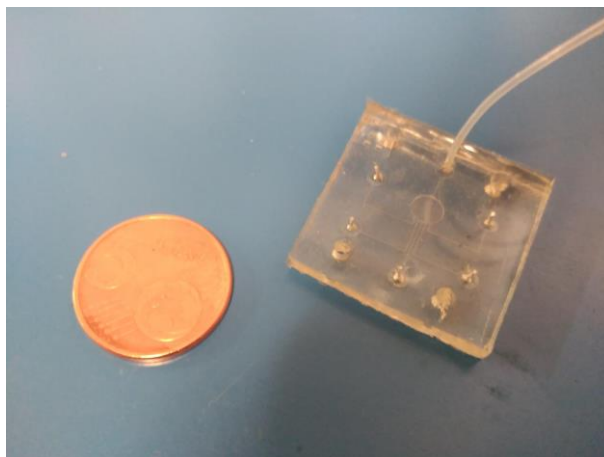


Figura 3.3 Imagen del chip fabricado en PDMS.

El chip consta de seis canales que conectan el exterior con la cámara de reacción. Los canales tienen una anchura de $250\ \mu\text{m}$ y $50\ \mu\text{m}$ de alto. La cámara tiene un radio de $2,5\ \text{mm}$ y $250\ \mu\text{m}$ de altura, con lo cual el volumen máximo de la cámara es de $5\ \mu\text{L}$. Con el molde utilizado para realizar estos chips se podía fabricar al mismo tiempo seis modelos distintos para realizar las diferentes pruebas. Es importante indicar que, para la fabricación de este prototipo, el PDMS se vertía sobre el molde de SU-8 al que previamente se le habían colocado unas paredes fabricadas con una lámina de papel de aluminio. Es decir, la altura del dispositivo unicamente se controlaba a través del volumen de PDMS vertido sobre el molde. Por ello, los chips fabricados en tandas distintas no tenían una altura uniforme. Por otro lado, el desmoldado se hacía mediante el corte manual de cada uno de los chips, por lo que sus tamaños no siempre eran las mismas.

Este primer chip permitió aprender las técnicas de fabricación que serían la base para la consecución del chip final. También se pudo comprobar el funcionamiento de la válvula, siendo capaz de detener el flujo de líquido aplicando presión en un determinado punto del canal de entrada mediante la fuerza ejercida por el solenoide.

En el siguiente modelo se pretendía ejercer el control de flujo de múltiples entradas. De esta manera hubo que variar el diseño para adaptarlo a una estructura formada por varios solenoides. Aunque dicha estructura se comentará en el apartado 3.2, basta saber que se trata de seis solenoides unidos de manera que ocupan el menor espacio posible alineados cada uno de ellos sobre los distintos canales del chip.

En este chip el área tuvo que aumentarse con respecto al anterior para que los canales coincidieran con los vástagos de cada uno de los solenoides. Uno de los problemas más importantes a la hora de hacer que el sistema funcionara era el de conseguir una alineación correcta con respecto a estos actuadores lineales. Para ello, era esencial fabricar prototipos que tuvieran las mismas dimensiones para facilitar el encuadre con los solenoides, que

estaban fijos sobre una plataforma. Por otro lado, era necesario que la altura del dispositivo fuera siempre la misma. Si el chip era demasiado bajo el solenoide puede no presionar lo suficiente los canales. Si era demasiado alto, no tendría la suficiente fuerza para deformar el PDMS y quedarse enclavado en esa posición, con lo que saldría rebotado.

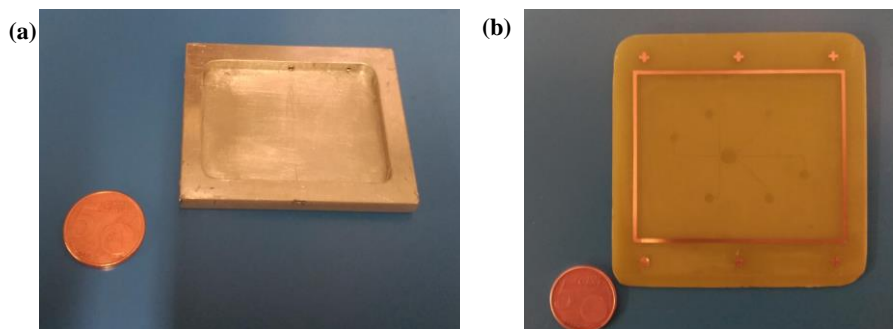


Figura 3.4 (a) Molde para el chip de PDMS fabricado en SU-8 sobre sustrato PCB. (b) Encapsulado de aluminio empleado para que el chip de PDMS se fabrique con las dimensiones adecuadas.

Como solución se propuso crear un encapsulado que hiciera las funciones de molde para el chip y así se pudieran mantener estables las dimensiones de todos los prototipos. La idea era colocar este encapsulado sobre el molde de SU-8 e inyectar el PDMS en su interior. Para ello se practicó un hueco rectangular de 40 mm de ancho, 30 mm de alto y 4 mm de profundidad, sobre una pieza de aluminio de 5 mm de espesor. El hueco se realizó mediante una fresadora manual de banco (marca) con una fresa de 2 mm de diámetro. También se realizaron dos taladros en uno de los laterales del molde, uno para introducir el PDMS y el otro para permitir la salida del aire del interior del molde una vez cerrado. El encapsulado final se puede ver en figura 3.4 (a)

Para proceder al llenado del molde se coloca el encapsulado de aluminio alineado con respecto a los canales del molde de SU-8, figura 3.4 (b). Seguidamente se cierra con unas barras de apriete con palometas para evitar las fugas. Para introducir el PDMS en su interior se coloca en posición vertical sobre una plataforma y se inyecta mediante una jeringa al interior del molde a través de uno de los agujeros practicados en el lateral. Sabremos cuando está lleno en el momento en que empiece a salir PDMS por el agujero de purga de aire. El proceso de rellano se observa en la figura 3.5. Tras el curado en el horno se realiza el desmoldado de la pieza que tendrá grabados los canales microfluídicos. Quedaría por tanto realizar las perforaciones para la entrada de líquidos y cerrar los canales y la cámara con una membrana de PDMS. Las dimensiones de los canales y de la cámara siguen siendo las mismas que en el prototipo anterior, únicamente varía su disposición sobre el mismo para adaptarse al sistema de válvulas.

Con este nuevo método de fabricación se consigue el objetivo de obtener chips idénticos para poder realizar las pruebas. Así, no es necesario adaptar el sistema de válvulas a cada chip, regulando en cada uno de los ejes para hacer coincidir los solenoides con los canales.

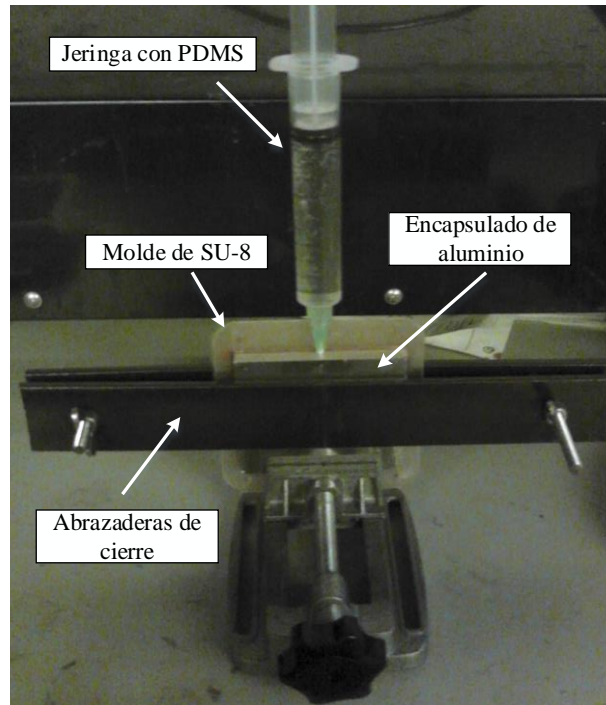


Figura 3.5 Unión de todo el conjunto y método de la inyección del PDMS en el molde.

Por lo tanto, se pudo fabricar una plataforma fija que constituía un dispositivo de control del flujo de los líquidos, en la cual se colocaba el chip que se adaptaba al mismo.

De esta forma, se pudieron hacer las pruebas con unos resultados razonablemente buenos. Sin embargo continuaban existiendo algunos problemas de alineación que provenían principalmente del molde de aluminio. Al haber sido realizado mediante una fresadora manual existían desniveles en la altura del chip que hacían que el funcionamiento de las válvulas no fuera el correcto. Como se comenta en el apartado 3.2, la estructura que soportaba los solenoides tampoco permitía la alineación correcta con los solenoides. Pese a estas dificultades, este prototipo sirvió para confirmar que el sistema podría funcionar correctamente siempre y cuando se solventaran estos problemas de alineación.

La solución a estos problemas llegó a partir de la adquisición por parte del grupo de investigación de una impresora 3D (BQ Hephestos) [1]. La fabricación de piezas en 3D permitió solventar los problemas derivados de la alineación de las distintas partes. Así se fabricó un nuevo soporte para el sistema de válvulas y se diseñó un nuevo chip adaptado a dicho soporte. El termoplástico que se emplea en esta impresora es el poliláctico (PLA).

La fabricación de este chip se realizó de manera muy similar al anterior, la figura 3.6 (a) muestra el nuevo molde de SU-8 que se emplea para este prototipo. Como diferencias indicar que, al adquirirse nuevos solenoides con un tamaño mas reducido, se redujeron a su vez las dimensiones del chip para adaptarse al nuevo sistema de válvulas. Además, cambió

la disposición de los solenoides y por tanto de los canales. Se optó también por realizar el encapsulado que se coloca en el molde con la impresora 3D. Al respecto de esto hay que indicar que existe una opción en la fabricación de piezas 3D para no rellenar completamente el modelo, con la idea de ahorrar material, así la impresora genera una estructura en forma de rejilla en el interior de la pieza, de forma que queda parcialmente hueca. Para realizar el molde es necesario que la pieza sea maciza, ya que debe ser introducida en el horno y la temperatura podría deformar el molde. Este encapsulado se muestra en la figura 3.6 (b).



Figura 3.6 (a) Molde para el chip de PDMS fabricado en SU-8 sobre sustrato PCB. (b) Encapsulado en PLA empleado para que el chip de PDMS se fabrique con las dimensiones adecuadas. (c) Chip microfluídico fabricado en PDMS.

Todos los modelos, tanto de los moldes para el PDMS como de los soportes para los solenoides, se diseñaron con SolidWorks. Al realizar todas las piezas mediante este software CAD para modelado mecánico se pudieron hacer coincidir mas fácilmente los puntos críticos de cada uno de los modelos, especialmente en lo referido al lugar exacto del canal en el que el solenoide debe presionar para funcionar como válvula. De esta forma, el funcionamiento del dispositivo mejoró sustancialmente, pudiéndose realizar de manera mas adecuada las pruebas de control de flujo de reactivos y confirmando que el sistema de válvulas funcionaría en el dispositivo final. El chip empleado para realizar las pruebas de este prototipo se muestra en la figura 3.6 (c). En este prototipo también cambian la disposición de los canales para adaptarse al sistema de válvulas, pero se mantienen las dimensiones de los mismos y de la cámara.

Por último, es necesario indicar que antes de diseñar el chip final, era preciso realizar pruebas en el resto de los módulos para confirmar su funcionamiento por separado. Por lo tanto, una vez comprobado que el sistema de válvulas era viable, se realizaron pruebas tanto de las cámaras de intercambio iónico, como del módulo de reacción.

3.1.2 Estructura final del circuito microfluídico

En esta sección se explicarán las características principales del chip para así justificar la estructura propuesto.

La gran parte del proceso de fabricación que se ha seguido hasta alcanzar el chip final se explica detalladamente en el Apéndice A. En este apartado únicamente se resumirán las partes más importantes de este proceso.

Para la fabricación del chip se comienza con la obtención de un molde de SU-8. Para ello se realiza el diseño del dispositivo utilizando el programa L-Edit (Tanner EDA), en el que se define el tamaño, la disposición de los distintos elementos, etc. Además, es

imprescindible tener en cuenta el lugar que ocupan los solenoides y su coincidencia con los canales. Por ello, se provecha para dibujar donde van a ir colocados estos dispositivos para tenerlo en cuenta en la estructura que los alberga. Para todo ello, se hace uso de las distintas capas de que disponemos para dibujar todos los elementos necesarios. A partir de este diseño, que se muestra en la figura 3.7, se obtendrán las máscaras fotolitográficas necesarias para la fabricación del molde.

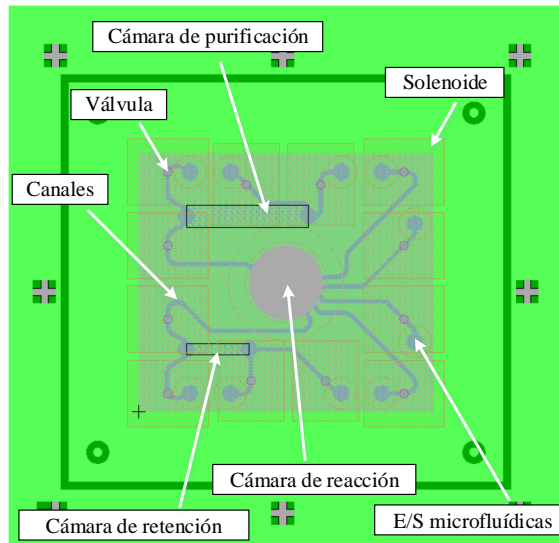


Figura 3.7 Layout del dispositivo, las distintas capas representan cada una de las partes del chip y su colocación para coincidir con las partes más importantes del sistema (válvulas, calentador...) .

Como sustrato para el molde se utiliza una placa de PCB en la cual se empleará el proceso de fotolitografía sobre el cobre para realizar marcas de alineación de las distintas máscaras. El PCB utilizado tendrá cobre en una de sus caras con un espesor de $35\ \mu\text{m}$, figura 3.8 (a).

El siguiente paso será proceder a la fotolitografía del PCB, superponiendo sobre el PCB la máscara de las pistas de cobre que obtuvimos anteriormente. La figura 3.8 (b) muestra el PCB tras el ataque ácido.

Para la realización del molde para los canales y la cámara se realizan varias deposiciones de resina fotosensible SU-8 en la oblea de PCB con las marcas de cobre. Para mejorar la adherencia de las distintas capas se realiza una primera deposición de muy poco grosor que denominaremos capa semilla, figura 3.8 (c).

A continuación se realizan el resto de capas que dará forma a la microfluídica del chip. Se desea que los canales tengan una altura de $150\ \mu\text{m}$ y la cámara una altura de $600\ \mu\text{m}$. Por ello, se fabrica una primera capa de $150\ \mu\text{m}$ que incluya ambas estructuras, figura 3.8 (d). Posteriormente, se añaden tres capas más de $150\ \mu\text{m}$ solamente para la cámara, para

que esta alcance la altura deseada, figura 3.8 (e). Finalmente se procede al revelado del molde. La figura 3.8 (f) muestra el resultado final.

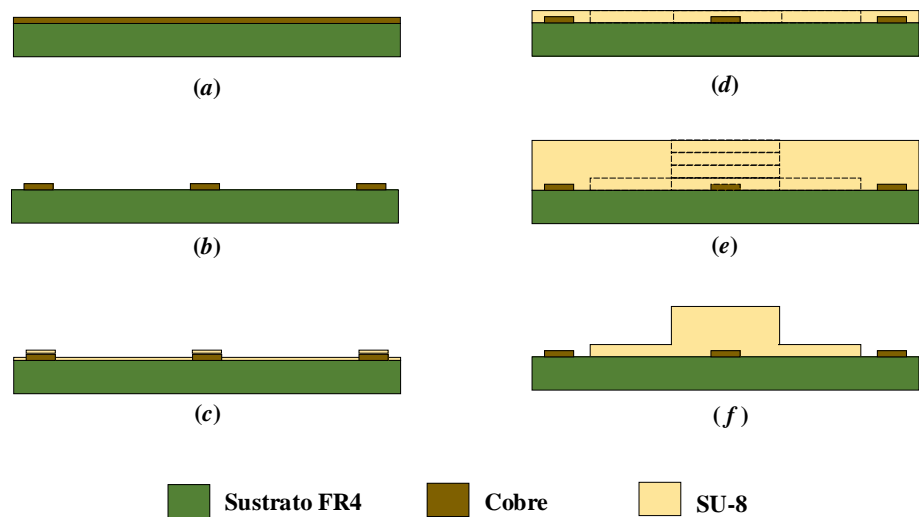


Figura 3.8 (a) Vista lateral del sustrato PCB para la fabricación del molde. (b) Atacado químico del cobre para dejar las marcas de alineación. (c) Deposición de la capa semilla. (d) Deposición de la capa de 150 μm para los canales y la cámara. (e) Deposición del resto de capas para la cámara de 600 μm . (f) Molde terminado una vez realizado el revelado.

El último paso consiste en la fabricación del chip en PDMS. El PDMS incorpora un agente curante que permite la solidificación del polímero cuando se adiciona en una determinada proporción. Para el caso de este chip se realizan dos volúmenes de PDMS distintos con diferentes proporciones, uno para el chip y otro para la membrana que cerrará los canales.

Existen autores que realizan chips parecidos mediante el empleo de la activación de las superficies por plasma de oxígeno [26]. En este caso se prefiere emplear una técnica que permite el pegado de las partes mediante el control de las proporciones del agente curante y los tiempos de curado.

Para el caso del chip realizaremos la mezcla en una proporción de 1:10 con respecto al agente curante y para la membrana una mezcla con una proporción de 1:20. Ambos recipientes se mezclan con una varilla de vidrio y se introducen en una campana de vacío para eliminar las burbujas producidas por el mezclado.

Mientras tanto se procede a la preparación del molde que se muestra en la figura 3.9. Para ello se realiza la limpieza de todas las partes que lo conforman con isopropanol. Deben quedar limpios tanto el molde de SU-8 como el encapsulado fabricado con la impresora 3D. Ambas partes se unen mediante los tornillos que se emplean tanto para cerrar el conjunto como para alinearlos. Para que quede hermético el molde se cierra con tuercas y se coloca una placa de aluminio de 5 mm para favorecer la distribución de la

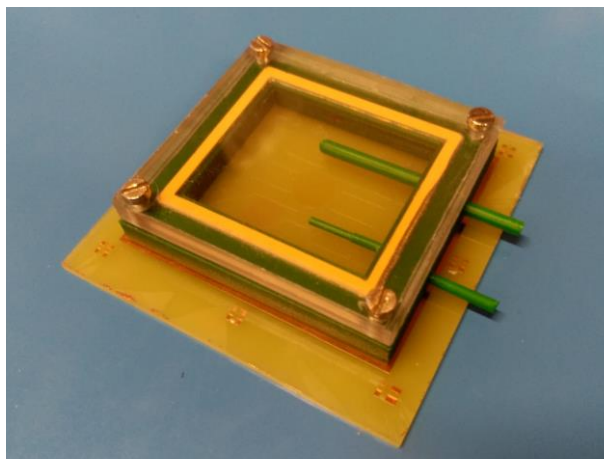


Figura 3.9 Molde de SU-8 junto con el encapsulado imprimido en 3D que darán forma al chip.

presión. La parte realizada con la impresora del molde no deja de ser un marco cuyo fondo se realiza con un rectángulo de metacrilato de 5 mm para que se pueda ver el interior durante el llenado. Para evitar fugas se incorpora una junta fabricada en etilvinilacetato. En uno de los laterales del molde se introducen dos varillas que darán forma a las cámaras de intercambio iónico. La figura 3.11 (a) representa esta parte del proceso.

Para rellenar el molde se introduce la mezcla desgasificada con proporción 1:10 en una jeringa, la cual se conecta en el lateral superior del encapsulado poniendo este en posición vertical, como se observa en la figura 3.10. Se introduce lentamente la mezcla en el molde procurando evitar la formación de burbujas. Para la salida del aire se incorpora un orificio de purga en una de las esquinas superiores. Una vez llenado se cierran los orificios de llenado y de purga con sendos tapones fabricados con neopreno, figura 3.11 (b).

Para fabricar la membrana se coloca sobre el spin coater (SMA Spinner 6000 Pro) una oblea de vidrio sobre la que se adhiere una lámina de acetato. Sobre este se vierte la mezcla de PDMS con proporción 1:20. Con esto obtendremos una fina lámina de 50 μm de espesor, que favorecerá la salida de los gases a través de la misma durante la reacción. El hecho de realizar la membrana sobre el acetato favorecerá el posterior despegado, ya que su adherencia es menor que si el proceso se hiciera directamente sobre el vidrio, figura 3.11 (c).

Ambas partes se introducen en el horno para el curado inicial. Una vez se ha conseguido este curado, se saca del horno y se procede al desmoldado del chip y a la realización de los orificios para introducir posteriormente los líquidos. Para ello se emplea un punch de biopsia y una estructura realizada con la impresora 3D a modo de plantilla que marca los puntos donde se van a realizar los taladros. Una vez realizados los orificios, se extrae el material sobrante de su interior mediante la utilización de pinzas, figura 3.11 (d).

También es necesario realizar los orificios que conectan las cámaras de intercambio iónico con los canales. En dichos orificios se introducen unos filtros de poliestireno que

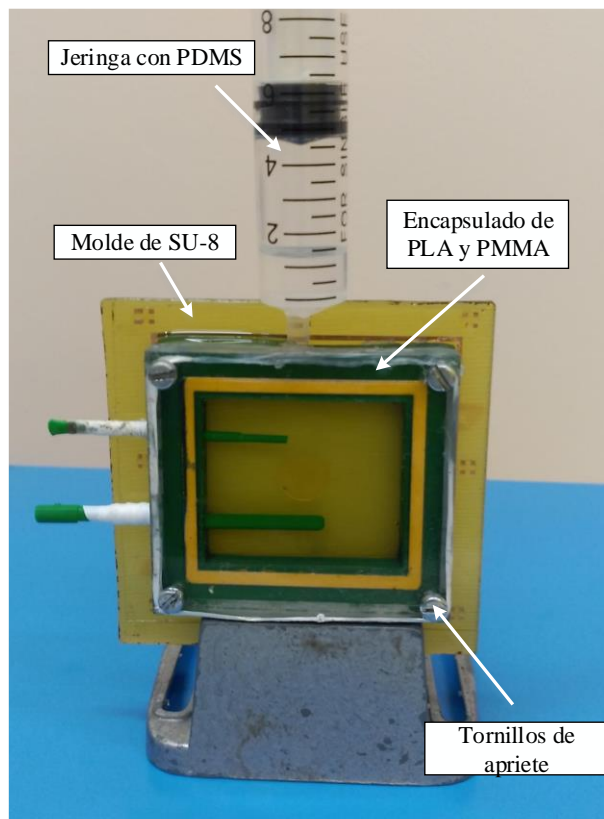


Figura 3.10 Proceso de llenado del molde para la fabricación del chip de PDMS.

permiten que las partículas que forman las resinas de intercambio permanezcan en las cámaras (Fritado 20 μm PE, ExtraBond, Scharlau).

Por último se cierran los canales con la membrana colocando la parte superior del chip sobre el acetato con PDMS. Ambas partes se introducen en el horno para la unión permanente del conjunto, figura 3.11 (e). Una vez transcurrido este tiempo se despegue con sumo cuidado el chip con membrana del acetato procurando evitar roturas, figura 3.11 (f).

Con esto quedará fabricado el chip a falta de introducir las resinas de intercambio iónico, la figura 3.12 muestra dicho dispositivo.

En cuanto a sus dimensiones, se ha buscado reducir en la medida de lo posible el tamaño del dispositivo para disminuir los costes de producción. El chip tiene unas dimensiones de 40 mm de largo y 35 mm de ancho. Uno de los principales factores limitantes para estas medidas es la colocación de los puntos de presión de las válvulas sobre los canales. Esto es debido a que se deben introducir doce solenoides rodeando el chip en el menor espacio posible.

El chip tiene una altura de 6 mm, lo suficiente para introducir los conectores microfluídicos que permiten el paso de los líquidos a su interior. Además es suficiente para albergar

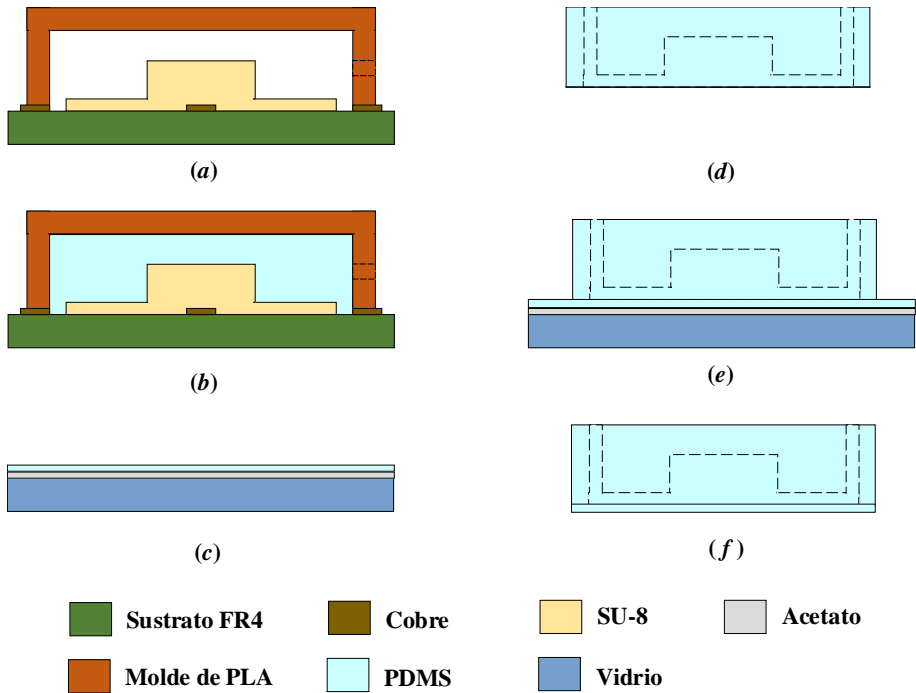


Figura 3.11 (a) Vista lateral del sustrato PCB con el encapsulado de PLA. (b) Inyección del PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip y realización de los orificios. (d) Colocación del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (e) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (f) Separación del chip microfluídico del acetato .

en su parte media las dos cámaras de intercambio iónico, las cuales tienen un diámetro de 3 y 1,5 mm respectivamente.

Los canales tienen un ancho de $500\ \mu\text{m}$ y una altura de $150\ \mu\text{m}$. En los extremos de cada canal se colocan unas cámaras de entrada de reactivos con un diámetro de 2,2 mm. Estas entradas marcan los puntos donde se practican los orificios de entrada de líquidos. A lo largo de los canales se disponen las zonas de presión de los solenoides. Estos círculos tienen un diámetro de $800\ \mu\text{m}$, y es el punto exacto donde el vástago del solenoide de 1,2 mm de diámetro deforma la membrana de PDMS para cerrar el canal.

En el chip existen dos zonas que conectan la parte superior con la parte intermedia en la que se disponen las cámaras de intercambio iónico. Para comunicar estas zonas se realizan orificios de 2 mm donde se colocan los filtros que retienen las resinas en su interior. Estos filtros miden 2,2 mm de diámetro y tienen $20\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro. Una vez rellenas de resina, estas cámaras se cierran con émbolos de jeringa que se introducen por el lateral del chip.

Para facilitar el llenado de la cámara todos los canales entrada confluyen en uno de sus laterales y el canal de salida se coloca en el extremo contrario. Si el canal de entrada

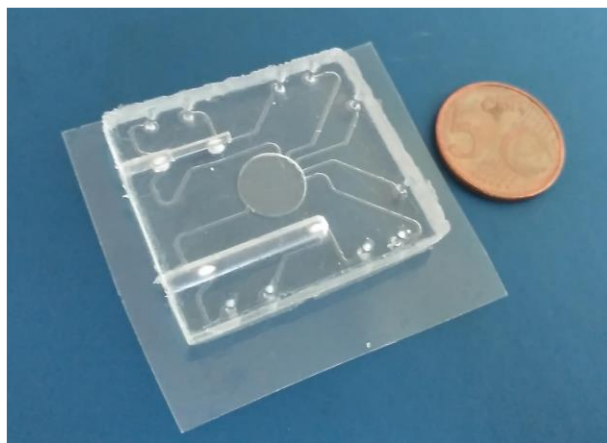


Figura 3.12 Imagen del dispositivo microfluídico diseñado.

estuviese demasiado próximo al de salida, al entrar el líquido podría salir al exterior de la cámara antes de lo deseado. Esta cámara tiene un diámetro de 10 mm y una altura de 600 μm . Tamaño más que suficiente para albergar los volúmenes necesarios para la reacción.

La membrana que cierra los canales y la cámara tiene un espesor cercano a las 50 μm . Se ha tenido en cuenta para su fabricación que sea lo suficientemente delgada como para favorecer la extracción de los gases producidos durante la reacción. Es importante indicar que una membrana extremadamente delgada podría llegar a romperse durante el proceso, principalmente por la fuerza que ejerce la bomba de vacío durante la síntesis. Es por ello, que se ha intentado buscar un tamaño adecuado para evitar estas posibles roturas y favorecer la desgasificación.

Finalmente, se consigue fabricar un dispositivo de reducido tamaño que integra numerosos módulos en su interior. El proceso de fabricación se ha afinado hasta lograr que sea repetitivo y las dimensiones del dispositivo se ajustan perfectamente al resto del sistema, para que puedan realizarse correctamente las funciones esperadas.

3.2 Flujo de reactivos

Una de las bases en la que se fundamenta el presente estudio es el control de los reactivos que procesa el sistema. Se pretendía buscar una manera novedosa y eficaz de administrar los flujos de líquidos priorizando que todo el conjunto favoreciera la integrabilidad del dispositivo.

Como se explicó en el apartado 2.1 existen multitud de sistemas que realizan esta función en dispositivos fabricados en PDMS, muchos de los cuales emplean capas de control para lograr su objetivo [84]. La válvula propuesta minimiza las dificultades a la hora de fabricar el chip microfluídico ya que elimina la capa de control. En su lugar, la presión ejercida sobre los canales para controlar los líquidos se realiza sobre la parte superior del chip. Además, el control electrónico de los actuadores mejora la precisión del sistema. Por otro

lado, hay que destacar que el modelo propuesto asegura la precisión en la alineación del conjunto para su correcto funcionamiento.

3.2.1 Válvulas con solenoides: funcionamiento

En este apartado se explica detalladamente el funcionamiento de estos actuadores y las primeras pruebas realizadas para llegar al dispositivo de control final.

Como solución al problema de la integración de las válvulas para el dispositivo se planteó un sistema que utilizara actuadores lineales en puntos estratégicos del circuito para ejercer presión sobre los canales que transportan los distintos reactivos. Estos actuadores lineales incorporan un núcleo formado por una bobina de hilo de cobre enrollado helicoidalmente. Como es sabido, estos dispositivos son capaces de crear, mediante el paso de una corriente eléctrica, un campo magnético intenso en su interior. Este campo magnético mueve el vástago que incorpora en el interior de la bobina, haciendo que suba o baje dependiendo de la dirección del flujo.

Para el cálculo del módulo del campo magnético en el tercio medio del solenoide se puede emplear la siguiente expresión:

$$B = \frac{mNi}{L} \quad (3.1)$$

Siendo m la permeabilidad magnética, N el número de espiras del solenoide, i la corriente que circula y L la longitud total del solenoide. Por otro lado, el campo magnético en los extremos de un solenoide puede calcularse a partir de la siguiente expresión:

$$B = \frac{mNI}{2L} \quad (3.2)$$

Estas expresiones nos sirven para calcular las características principales del solenoide y así poder hacer una elección adecuada del mismo.

Como se ha comentado, el funcionamiento de la válvula se basa en la presión ejercida por el vástago del solenoide sobre un punto del canal microfluídico para cerrar el paso del fluido. Al levantar el vástago y liberar la presión se permitirá el paso del líquido. Para impulsar los líquidos por los distintos canales se emplea aire comprimido. Por tanto, la idea es tener los distintos reactivos en recipientes a presión y que la apertura de la válvula permita el desplazamiento del líquido por el interior del chip. Como ejemplo, imaginemos que deseamos introducir el primer reactivo al interior de la cámara de reacción. En el instante inicial los recipientes con los diferentes líquidos permanecen a presión y conectados a las entradas de chip, pero no se produce el movimiento de ninguno de ellos porque todos los vástagos de los solenoides mantienen ejercida la presión sobre sus respectivos canales. Para comenzar a introducir el reactivo levantaríamos simultáneamente el solenoide de la entrada correspondiente y los solenoides correspondientes a la salida del sistema para permitir que el aire se expulse al exterior. De esta forma, el líquido correspondiente al primer vial comenzará a fluir hacia la cámara. Una vez que el reactivo está en la cámara podemos volver a cerrar todas las entradas y salidas y proceder a realizar los procesos que sean necesarios (calentamiento, evaporación...). De la misma manera se puede actuar con el resto de entradas. El funcionamiento de la válvula se puede observar en la figura 3.13

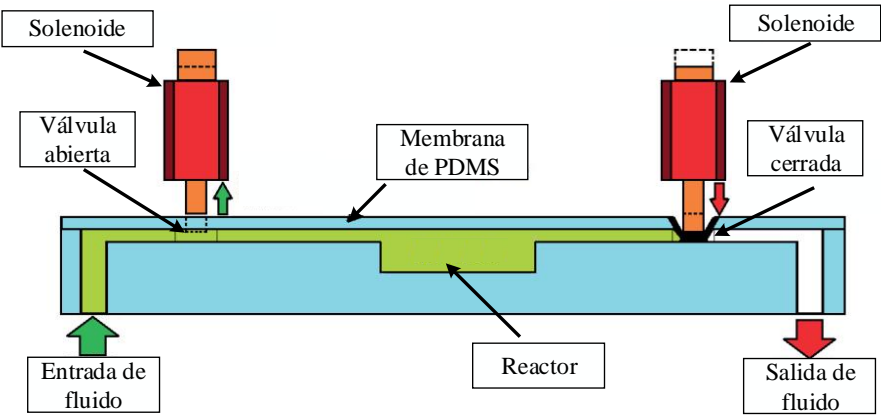


Figura 3.13 Funcionamiento del solenoide para la apertura y el cierre de una válvula sobre un canal microfluídico.

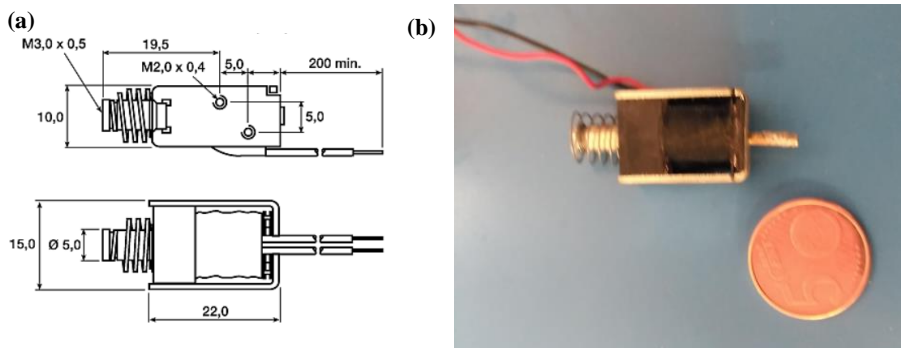


Figura 3.14 (a) Dimensiones principales del solenoide. (b) Fotografía del solenoide de TDS empleado para la implementación del sistema de válvulas.

Para realizar las primeras pruebas con estos dispositivos, se adquirieron unos solenoides diferentes a los que se emplearían en el modelo final (65 Series Miniature Latching Solenoid, RS). La figura 3.14 (a) muestra las dimensiones principales del solenoide. Cuando se acciona, el dispositivo incorpora un imán que permite su enclavamiento cuando el vástago se recoge dentro del solenoide, de esta forma se mantiene en dicha posición sin necesidad de consumo eléctrico. Esta fuerza de enclavamiento es de 3 N y su tensión de trabajo es 12 V. Para que realizase la función deseada de presión sobre los canales hubo que incorporar al vástago una barra metálica, la figura 3.14 (b) muestra el dispositivo modificado.

Estos solenoides se utilizaron para las primeras estructuras en metacrilato y sirvieron para confirmar el funcionamiento del sistema de válvulas. Sin embargo, su elevado tamaño no permitía integrar el suficiente número de actuadores para controlar todas las entradas

y salidas necesarias en un área que fuese aceptable. Por ello era necesario encontrar solenoides de menor tamaño.

Los solenoides que finalmente se emplearon para el sistema son los de la empresa japonesa TDS [7]. Además de su reducido tamaño, que permitía integrar muchas válvulas en una pequeña superficie, ofrecía la posibilidad de realizar modificaciones como la longitud del vástago, la fuerza ejercida, tensión de alimentación... Así se pudieron diseñar unos actuadores personalizados que permitían cumplir de mejor manera con especificaciones que se precisaban.

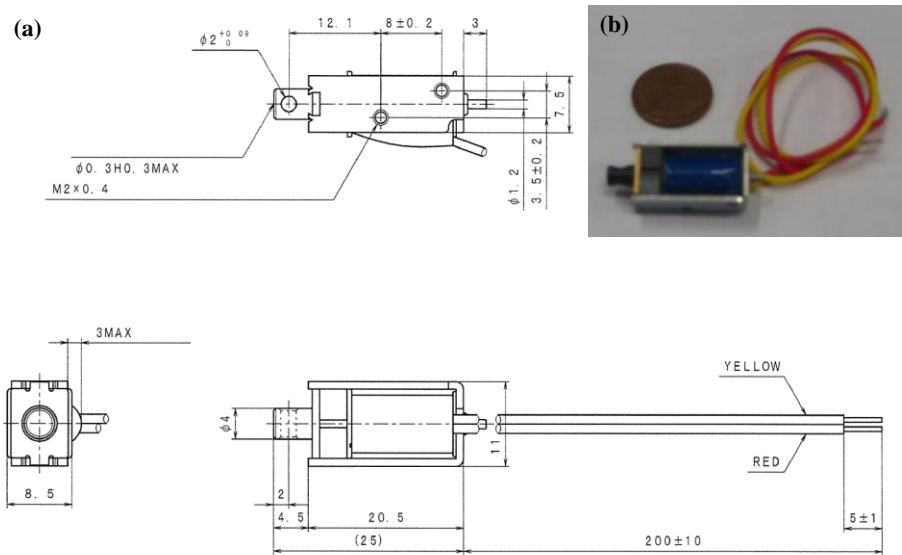


Figura 3.15 (a) Dimensiones del solenoide. (b) Fotografía del solenoide.

La figura 3.15 (a) muestra las dimensiones principales de estos solenoides, como puede verse, su tamaño es inferior a los anteriores, lo cual permite incorporar un mayor número de válvulas en el chip. En este caso no hizo falta modificar este solenoide, ya que se solicitó con las características adecuadas para que su vástago presionara sobre los canales, como se observa en la figura 3.14 (b). La fuerza de enclavamiento es de 1,96 N y la tensión de funcionamiento es de 15 V. Para un ciclo de trabajo normal, el tiempo de activación, tanto para abrir como para cerrar la válvula es de 0,3 s.

En cuanto a las características de los canales sobre los que se ejerce la presión, se han diseñado con un ancho de $500 \mu\text{m}$ y una altura de $150 \mu\text{m}$. Por lo tanto, para la alineación debemos asegurarnos que el solenoide llegue hasta el fondo del canal y presione la membrana de $50 \mu\text{m}$, para bloquearlo. Durante las pruebas se comprobó que, si se presiona directamente sobre el canal, se podía producir el rebote del vástago, ya que el solenoide carecía de fuerza para deformar el PDMS. Para resolverlo, se diseñaron puntos de presión sobre los canales consistentes en círculos de un diámetro de $800 \mu\text{m}$. Teniendo en cuenta que el vástago del solenoide tiene un diámetro de 1,2 mm, la incorporación de

estos puntos facilitaron el funcionamiento de la válvula, al permitir el colapso total del canal. Además, sirvieron para facilitar la alineación con todo el sistema.

Se realizaron pruebas para la comprobar la presión máxima de funcionamiento que el sistema es capaz de soportar sin que el funcionamiento de la válvula se vea afectado. En este sentido, resultó ser más crítico el grosor de la membrana de los canales que la fuerza con la que los solenoides cierran el canal. Esto se debe a que una presión demasiado elevada haría que la membrana se rompiera antes de hacer que líquido pasara a través de una válvula cerrada. Según las pruebas, esta presión máxima antes de la rotura es cercana a 1 bar. Para el funcionamiento del dispositivo no será necesario llegar a valores tan altos, siendo suficiente para impulsar los reactivos presiones que van de los 10 mbar hasta los 150 mbar.

En definitiva, lo que se consigue con el sistema propuesto es una válvula que puede ser accionada de manera electrónica y que permite, mediante el software de control, mejorar la automatización del proceso.

3.2.2 Alineación de los solenoides. Estructura 3D

En este apartado se explica el diseño de las estructuras para probar las válvulas en los primeros modelos de chip. Seguidamente, se explican las características del encapsulado del dispositivo final, tanto del chip como de los solenoides, que sirve para la alineación de todo el conjunto.

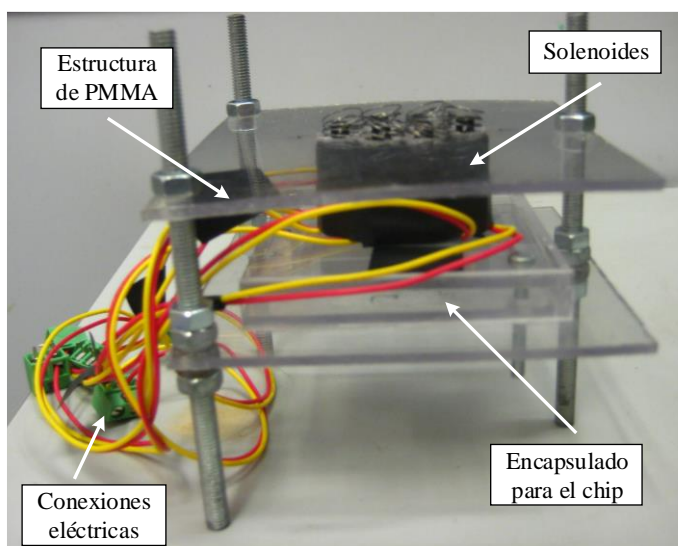


Figura 3.16 Imagen de la estructura que alinea cada uno de los canales del chip con sus respectivos solenoides.

La primera estructura para la realización de las pruebas de funcionamiento del sistema de válvulas se realizaron en metacrilato. Para unir las distintas alturas se utilizaban varillas roscadas, las plataformas podían regularse mediante tuercas. Incorporaba un encapsulado

en el que se introducía el chip de microfluídica. Se practicaron varios orificios por los que pasaban los vástagos de los solenoides, que coincidían con los canales. En este modelo, los solenoides estaban controlados manualmente mediante conmutadores de palanca de tres posiciones, que permitían invertir el sentido de la corriente para abrir o cerrar la válvula. La figura 3.16 muestra la estructura fabricada para realizar las pruebas de control de reactivos.

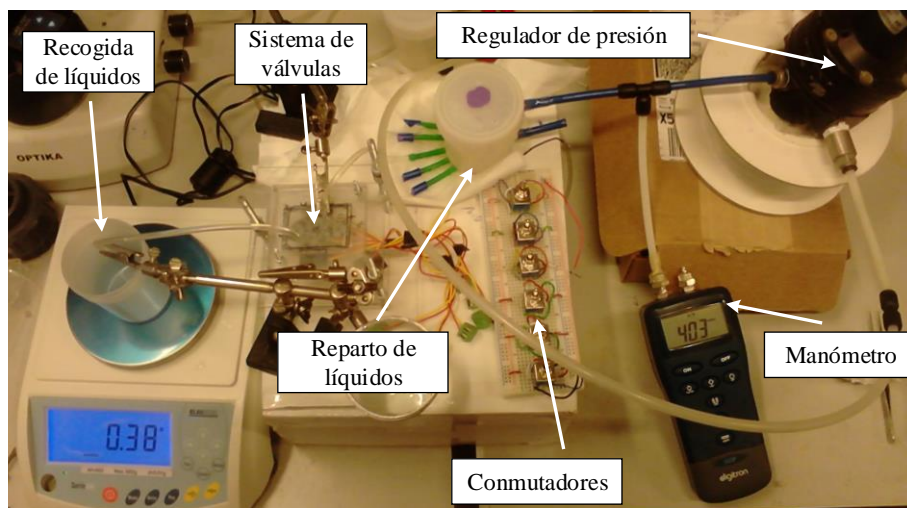


Figura 3.17 Imagen de las diferentes partes del montaje realizado para realizar las pruebas del sistema de control de fluidos.

Para confirmar el funcionamiento del sistema de válvulas se realizó un montaje que se muestra en la figura 3.17. Con el regulador se introduce la presión deseada, medida con el manómetro digital, en la entrada del recipiente de reparto de líquidos. Este recipiente tiene cinco salidas que se conectan con el chip microfluídico colocado en la estructura con los solenoides. Mediante los conmutadores de tres posiciones, accionamos las diferentes válvulas para permitir el paso del fluido por el interior del chip. A la salida, se controla el volumen de líquido impulsado al pesarse con una balanza de precisión.

Cuando las válvulas permanecían cerradas (presionando sobre el canal), el agua permanecía en el recipiente. Al abrir las válvulas de salida y de una de las entradas, el líquido fluía al interior del chip y salía del mismo hasta llegar al recipiente de recogida de líquidos. Si se volvían a cerrar los solenoides accionando el conmutador correspondiente, el flujo se detenía. Funcionaba de igual manera para el resto de entradas. Las pruebas se realizaron a una presión de 400 mbar.

Esta estructura cumplió la función de realizar las primeras pruebas de concepto del sistema. Se consiguió que funcionaran todas las válvulas, pero la alineación con el chip era muy dificultosa, especialmente en lo relacionado con la distancia entre el chip y los vástagos. Si estaban demasiado cerca el solenoide no tenía fuerza para deformar el PDMS y rebotaba. Si estaba muy lejos, el vástago no llegaba a deformar lo suficiente el canal como

para colapsarlo. En ambos casos, el correcto funcionamiento depende de una distancia de pocos cientos de micras, que debía ajustarse de forma manual regulando las tuercas. Por todo ello, se decidió que mejorar la estructura era fundamental para tener un sistema realmente funcional.

La siguiente estructura se realizó mediante la impresora 3D. Este soporte era capaz de controlar seis válvulas, por lo tanto, empleaba un chip con cinco entradas y una salida. Se emplearon los solenoides de menor tamaño adquiridos a TDS, lo cual reducía considerablemente el área empleada para la integración. Se colocaban en dos hileras de tres solenoides que se fijaban mediante tornillos. La estructura tenía un encapsulado en la parte inferior para colocar el chip microfluídico, la cual incorporaba seis orificios para introducir los tubos que se conectan al chip. Por supuesto, los vástagos de los solenoides se alineaban perfectamente en todos los ejes para el correcto funcionamiento. El chip se fabricaba mediante un molde para que se ajustara a su encapsulado. La figura 3.18 (a) muestra la estructura fabricada.

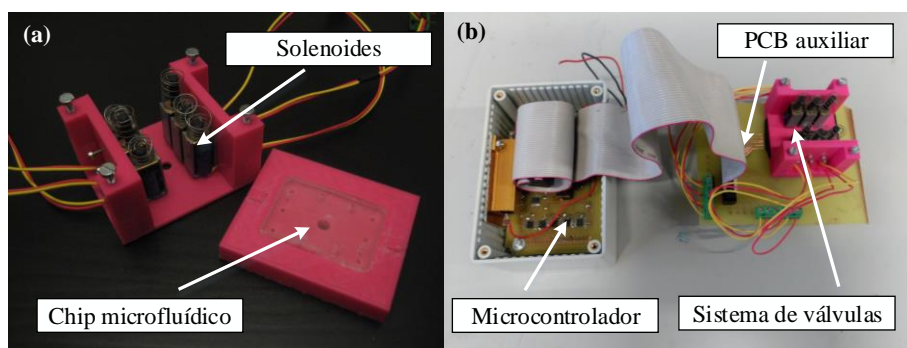


Figura 3.18 (a) Encapsulado para seis solenoides con el chip empleado para realizar las pruebas. (b) Sistema de válvulas conectado a la electrónica que las controla.

También se realizaron pruebas similares a las del anterior modelo para confirmar el funcionamiento correcto. En este caso el control sobre los solenoides se realizaba mediante un programa de LabView que permitía abrir o cerrar las válvulas. Para poder realizar el control del sistema se utiliza el programa LabView Interface for Arduino (LIFA), el cual que permite adquirir datos del microcontrolador Arduino y procesarlos en el entorno de programación gráfica de LabView. Este entorno de programación y todo lo relacionado con la automatización del proceso se explican en el apartado 4.1. La figura 3.18 (b) muestra la electrónica empleada para controlar el sistema.

El uso de la impresora para la fabricación del encapsulado del chip y de la estructura de soporte de los solenoides mejoró sustancialmente el funcionamiento del sistema y se comprobó que era la mejor opción para poder realizar un prototipo viable.

A partir de los resultados obtenidos con estos modelos iniciales se decidió realizar un prototipo final para la estructura que alberga el sistema de válvulas. Debía ser capaz de controlar todas las entradas y salidas del sistema. Por ello, era necesario confirmar cuántos reactivos y etapas del proceso serían necesarias para realizar la síntesis.

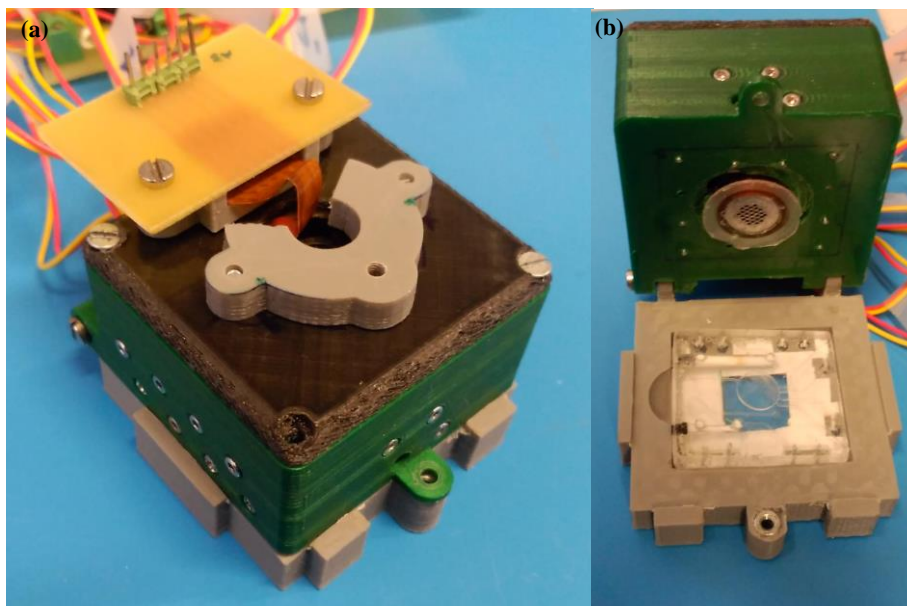


Figura 3.19 (a) Encapsulado para doce solenoides cerrado. (b) Encapsulado abierto con el chip en su interior.

Se llegó a la conclusión de que serían necesarias doce válvulas para que el dispositivo fuese capaz de controlar todos los líquidos empleados en el proceso. Esto implicaba introducir doce solenoides en el menor espacio posible para reducir el tamaño del encapsulado, lo cual también influiría en las dimensiones del chip. La figura 3.19 (a) muestra la vista general del dispositivo. Se buscó una disposición en la que los solenoides rodeaban la estructura reduciendo el espacio empleado al máximo, figura 3.20 (a). Los cables de alimentación de los solenoides rodean el interior de las paredes de la estructura y salen por uno de los laterales.

El encapsulado del chip se abre mediante bisagras para facilitar la conexión del sistema con la microfluídica, figura 3.19 (b). En la parte inferior se incorporan orificios para introducir los tubos con conectores que coinciden con las entradas microfluídicas figura 3.20 (b).

Evidentemente, a la hora de diseñar el chip se ha tenido en cuenta el tamaño y la posición de los solenoides para definir los puntos de presión donde actúan los vástagos. Hay que tener en cuenta que la parte central de la estructura está ocupada por sistema de transferencia de calor y de vacío simultáneo, sobre el cual se explicará su funcionamiento mas adelante.

En la figura 3.21 se puede ver un esquema del chip empleado donde se localizan los puntos en los que cada uno de los solenoides presiona para realizar la función de válvula. Se han numerado del 1 al 10 para que sean fácilmente identificables. Observese que existen cuatro válvulas numeradas como 1, 1', 7 y 7' que se utilizan en la zona de las cámaras de intercambio iónico. Las válvulas 1 y 1' se abren y cierran al mismo tiempo y permiten

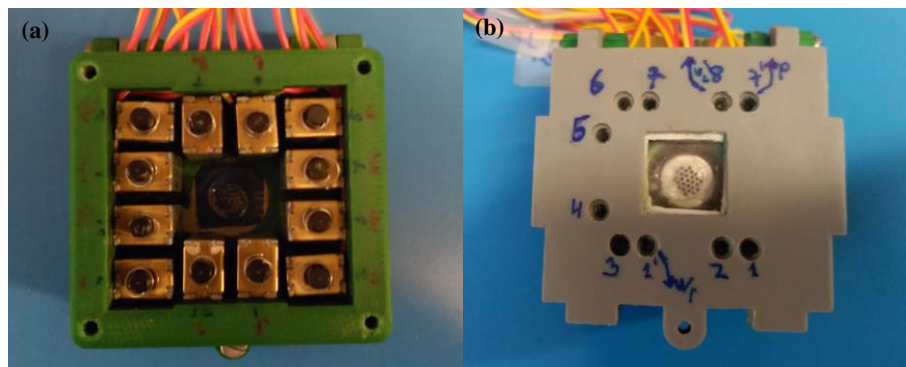


Figura 3.20 (a) Disposición de los solenoides. (b) Orificios de entrada de reactivos al interior del chip.

la entrada del fluoruro en la cámara de retención. Las válvulas 7 y 7' también actúan al mismo tiempo y permiten la elución de la cámara de purificación. Las válvulas 9 y 10 cierran el paso de los reactivos entre la cámara de reacción y las de intercambio iónico. Las válvulas 2, 3, 4, 5 y 6 están pensadas para poder introducir reactivos en la cámara de reacción, en el caso de la válvula 2, pasando por la cámara de retención y abriendo la válvula 10. Para poder introducir estos reactivos sería necesario abrir un camino de salida que se puede realizar abriendo las válvulas 8 y 9. Por supuesto el sistema no es inamovible y puede variar dependiendo de las necesidades del usuario, por ejemplo, puede variarse la forma de los canales y su disposición, lo único que tendría que mantenerse fijo es la posición de cada uno de los puntos de presión.

Para introducir los reactivos en el interior del chip se fabricó un soporte con la impresora 3D para el reparto de líquidos, se muestra en la figura 3.22. Consta de siete viales (pudiéndose colocar hasta ocho) unidos a una estructura mediante tornillos que ejercen presión sobre sus tapones. Cada uno de los viales tiene una entrada de presión que se pincha con una aguja en la membrana que tienen para tal fin cada uno de los tapones en su parte superior. Todas estas entradas se unen y se conectan con el regulador de presión, con lo que se ejerce la misma fuerza de impulsión sobre todos los reactivos. Por otro lado, cada vial tiene una aguja que llega hasta el fondo del recipiente que contiene el reactivo y que conecta mediante conectores microfluídicos y tubos de tygon (con diámetro interno 1,6 mm y diámetro externo 3,2 mm) con cada una de las entradas del chip microfluídico. Así, el sistema mantiene todos los recipientes a presión hasta que las válvulas se abren e impulsan el reactivo desde su vial al interior del chip.

A lo largo de las numerosas pruebas realizadas se ha comprobado que el funcionamiento del sistema es correcto. La alineación de las distintas partes ha mejorado de manera importante a medida que se desarrollaban los distintos prototipos, llegando a un sistema de control de los reactivos compacto y funcional. El reducido tamaño del dispositivo y el bajo coste de los materiales empleados para su fabricación hacen de este prototipo una gran aportación para la síntesis de radiofármacos.

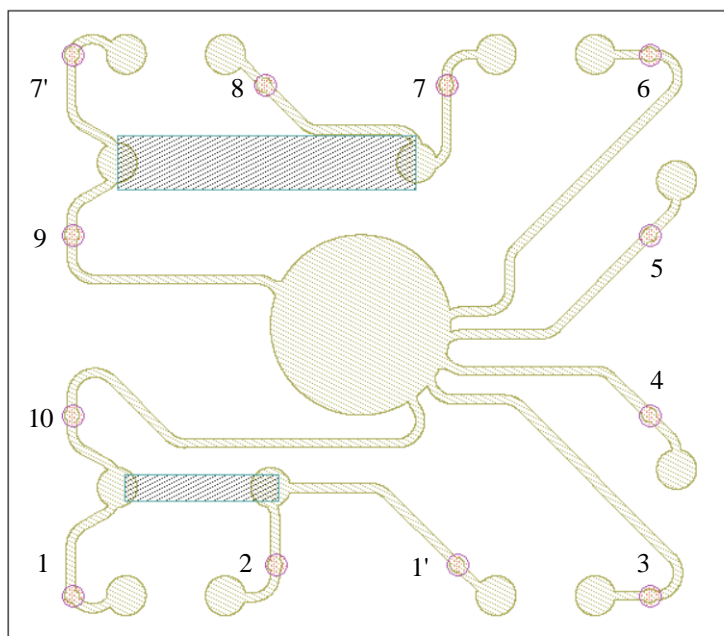


Figura 3.21 Puntos de presión de los solenoides en el chip para accionar las válvulas y numeración elegida.

3.3 Control y transferencia de calor. Sistema de vacío

En esta sección se aborda la descripción del sistema de transferencia de calor a la cámara de reacción del chip microfluídico. Para poder realizar el proceso de síntesis del radiofármaco es imprescindible calentar y evaporar los reactivos que se utilizan de manera eficiente, como se explicaba en el apartado 1.1.

Para poder acelerar la reacción es conveniente aumentar en la medida de lo posible la extracción de los gases del interior de la cámara. Pese a que la membrana es porosa a la salida de los gases del interior de la cámara, el proceso es lento. Por lo tanto, si no se utilizase una ventilación forzada, el tiempo de reacción se incrementaría considerablemente.

Por lo tanto, se ha buscado la manera de fabricar un dispositivo que facilite tanto el calentamiento de la cámara como la extracción de los gases de su interior de forma eficaz. El desarrollo de este dispositivo supone una nueva contribución de esta tesis como novedoso método de implementación de un sistema de reacción en un chip de PDMS.

3.3.1 Primeros modelos

En los primeros prototipos el calentamiento se realizaba con una resistencia y los gases se extraían de la cámara haciendo el vacío a través de la membrana, la figura 3.23 muestra un esquema en que se representan las distintas partes de este dispositivo. Para ello, se fabricó un serpentín de cobre en un PCB por el cual se haría circular una corriente. La cercanía

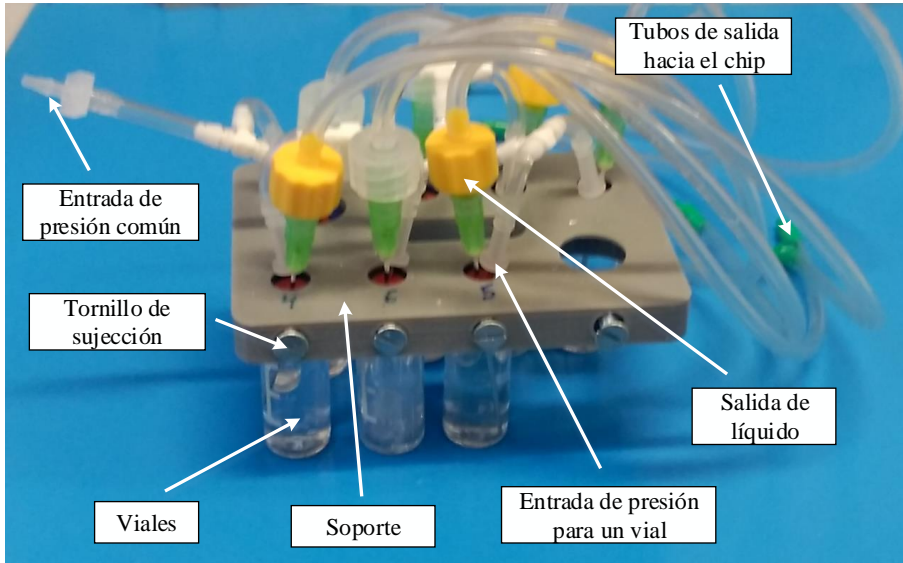


Figura 3.22 Soporte de sujeción de los viales para la impulsión y el reparto de reactivos al interior del chip microfluídico.

de las pistas entre sí permitiría que el diseño funcionara como micro calentador. El ancho de pista era de $200\ \mu\text{m}$ y la distancia entre ellas era de $150\ \mu\text{m}$.

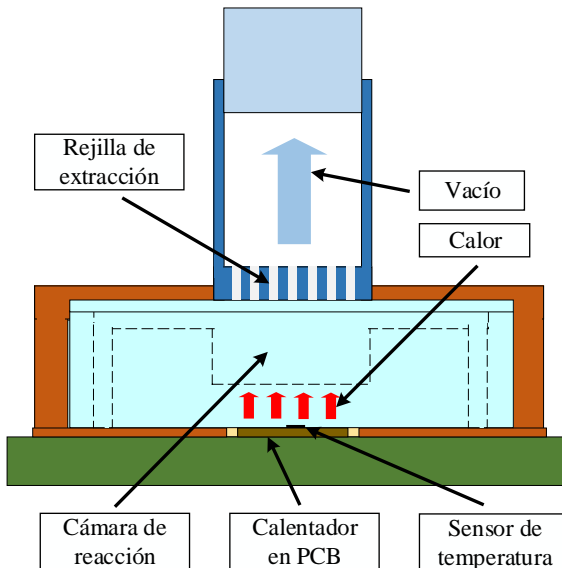


Figura 3.23 Esquema del funcionamiento del primer prototipo del sistema de calentamiento y extracción de gases.

En el mismo prototipo se incorpora en su parte central, rodeado por el serpentín, un sensor de temperatura TMP102 que funciona con comunicación I2C. El calentador y el sensor se colocan en la parte central del encapsulado donde se introduce el chip, de tal manera que la temperatura atraviesa el PDMS hasta llegar a la cámara de reacción. En la figura 3.24 se observa la disposición de los elementos descritos.

Sobre la membrana del chip se colocó un sistema de extracción que estaba formado por una pieza que se adaptaba al tamaño de la cámara y que incorporaba una rejilla para la salida de gases. Dicha pieza se conectaba a una bomba peristáltica de vacío.

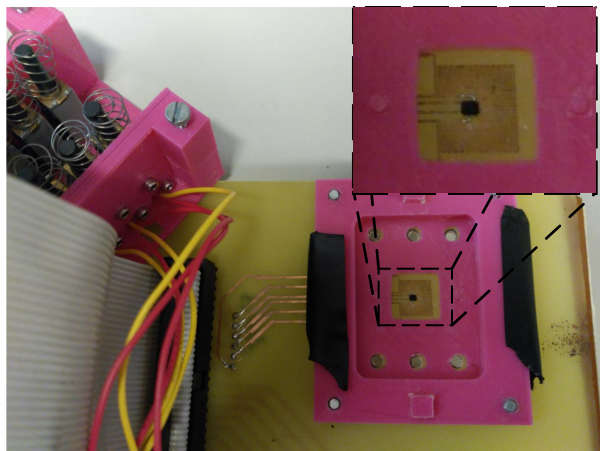


Figura 3.24 Imagen del calentador fabricado en PCB con el sensor de temperatura (ampliada), el chip se coloca en su encapsulado quedando la cámara en el centro.

Por lo tanto, este prototipo calentaba el chip por la parte inferior y extraía los gases por la parte superior, donde se encontraba la cámara. En aquel momento el reactor era capaz de albergar un máximo de $5 \mu\text{L}$, al ser un volumen tan reducido su evaporación es más sencilla. Pero este método no sería eficiente para volúmenes superiores, ya que la temperatura del calentador debía atravesar una capa de PDMS de 5 mm para llegar hasta la cámara y el tiempo empleado para secar el reactor sería excesivo. Por lo tanto, era necesario idear una manera de que, tanto el sistema de transferencia de calor, como el de extracción de gases se colocaran lo más cerca posible a la cámara de reacción.

3.3.2 Dispositivo final. Calentador en PCB flexible y extractor de aluminio

Como se ha comentado, la manera más eficiente de transmitir la temperatura a la cámara es colocando el calentador sobre la membrana del reactor. Sin embargo, al ser necesario realizar el vacío, surge el problema de integrar ambos sistemas en un espacio tan reducido.

Tras realizar numerosas búsquedas de dispositivos que realizaran los procesos que se necesitaban, no se encontró ninguno que cumpliera con la función deseada y se pudiera integrar de manera sencilla en el sistema. Por lo tanto, se optó por la solución de fabricar un prototipo que fuera capaz de satisfacer estas especificaciones. La figura 3.25 representa el esquema del dispositivo final fabricado.

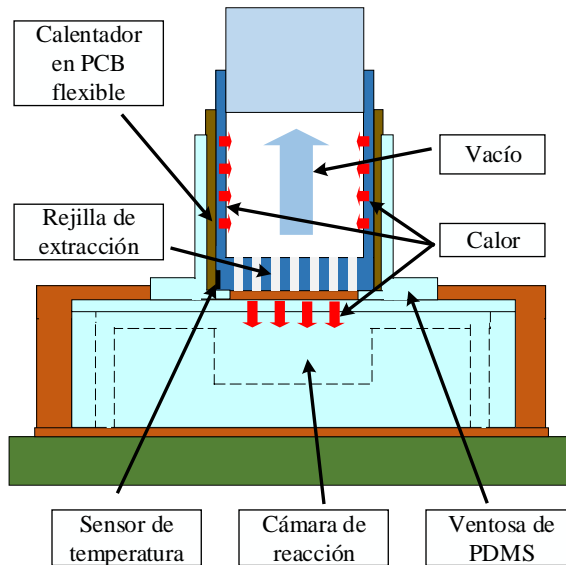


Figura 3.25 Esquema del funcionamiento y de las partes del prototipo final del sistema de calentamiento y extracción de gases.

Se decidió partir de un cilindro macizo de aluminio de 12 mm de diámetro y 20 mm de altura, al cual se le practicó un orificio no pasante de 10 mm de ancho, quedando a 1 mm del otro extremo del cilindro. En dicho extremo se practicaron, con la ayuda de la fresadora CNC, varios agujeros de $800\ \mu\text{m}$ de diámetro a modo de rejilla de extracción. En el orificio de 10 mm, se mecaniza una rosca en su interior con un macho para roscar y se coloca un adaptador de tubo a rosca neumático, utilizando teflón para evitar fugas. Cuando la pieza se conecte a la bomba de vacío mediante un tubo, será capaz de extraer los gases de la cámara a través de su rejilla. La conexión con el sistema neumático se facilita gracias a la incorporación del adaptador de tubo a rosca. La figura 3.26 (a) y (b) muestra las partes explicadas.

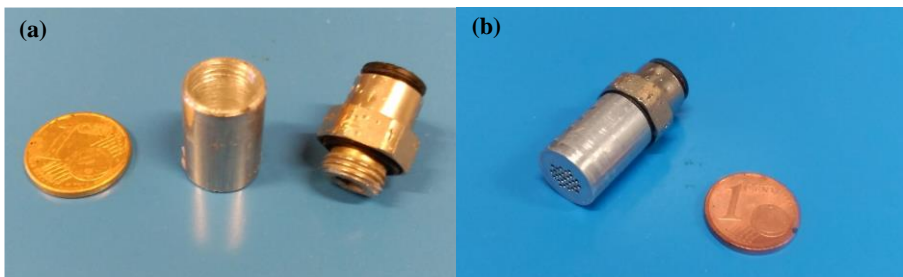


Figura 3.26 (a) Cilindro de aluminio mecanizado con rosca y adaptador tubo a rosca. (b) Detalle de ambas partes unidas donde se aprecia la rejilla de extracción.

Al realizar el dispositivo en aluminio se favorece la transferencia de calor hacia la cámara. Pero es necesario buscar una manera de que la temperatura se distribuya de la forma más eficiente posible alrededor de todo el cilindro, de tal forma que, la base en contacto con la cámara adquiera la temperatura deseada. Para ello, se rodea dicho cilindro con una resistencia de calentamiento para la distribución de calor.

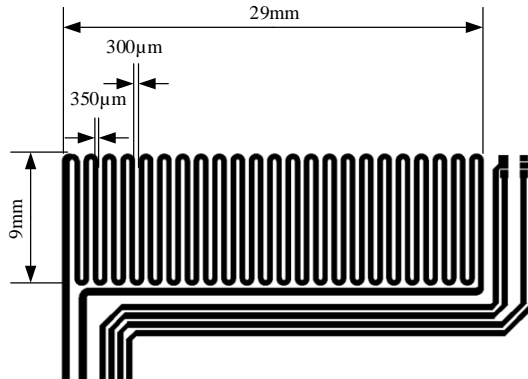


Figura 3.27 Medidas principales del calentador que rodea el cilindro.

Se diseñó en un PCB flexible un microcalentador para rodear el cilindro de vacío (AN10, CIF, Farnell). El sustrato que sostiene las pistas de cobre del PCB flexible es el kapton, el cual es muy adecuado para este propósito, ya que es capaz de soportar temperaturas cercanas a los 400 °C, el espesor de esta lámina es de 25 μm . Las pistas de cobre tienen una anchura de 350 μm , una separación entre ellas de 300 μm y un espesor de 35 μm . Una vez fabricado, la resistencia del calentador resultante es de 1,4 Ω . La longitud del PCB flexible se hace coincidir con la longitud del perímetro del cilindro, para que se ajuste perfectamente al mismo, las medias y la forma del diseño se muestran en la figura 3.27. En uno de los laterales del calentador se coloca un sensor de temperatura TMP102. La lectura del sensor será enviada a un microcontrolador de tal manera que se pueda controlar la temperatura del calentador mediante la programación de un PID. Para ello, se diseñan seis pistas que llevarán la corriente al calentador y las señales del sensor al sistema de control (V+, GND, SCL y SDA).

Para colocar el calentador sobre el cilindro, primero se rodea este último con un aislante eléctrico termoconductor, que tiene la capacidad de separar eléctricamente ambas partes, pero favorece la transferencia de calor al aluminio. Para que el sensor de temperatura se integre mejor en el dispositivo, se realiza un hueco de 2 mm en uno de los laterales del cilindro. Una vez que el calentador se coloca rodeando el cilindro, se fija a este mediante cinta adhesiva de Kapton. La figura 3.28 (a) muestra el calentador diseñado.

Por último, se rodea el dispositivo con un cilindro de PDMS que hará las funciones de ventosa. De esta manera, cuando se realiza el vacío todo el sistema se mantendrá fijo sobre el chip. Por su forma la ventosa permite que exista una separación de 1 mm entre la rejilla de extracción y la membrana. Tras las pruebas realizadas se ha comprobado que es

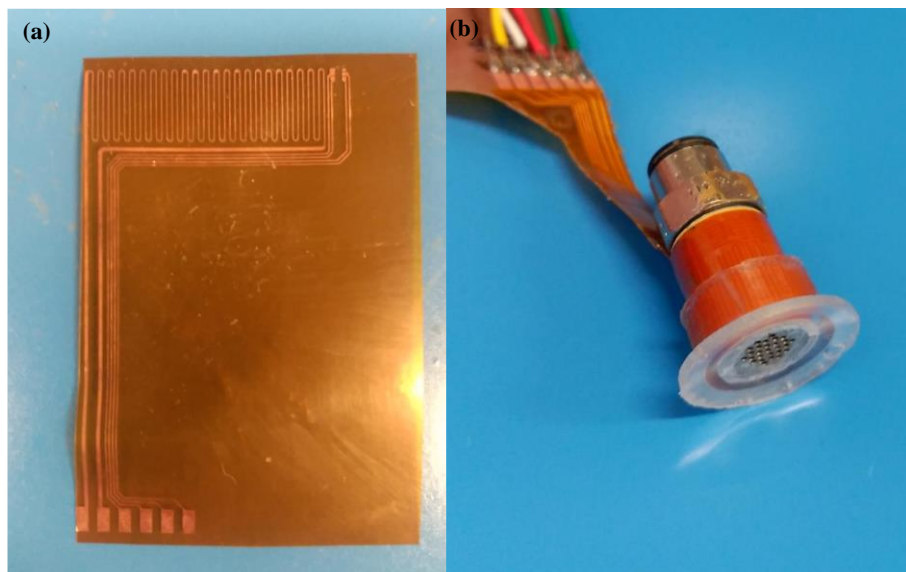


Figura 3.28 (a) Calentador fabricado en PCB flexible, para su colocación será necesario recortarlo, soldar el sensor TMP102 y aislar las pistas que llevan las señales al sensor con cinta adhesiva de Kapton. (b) Dispositivo final fabricado.

conveniente mantener esta distancia entre ambas partes para permitir que la membrana se expanda durante la reacción y evitar posibles roturas.

A la bomba de vacío se le puede incorporar fácilmente un manómetro para comprobar que está funcionando de manera adecuada, para el correcto funcionamiento debe ser inferior a -700 mbar. El dispositivo se integra en la parte central del soporte de los solenoides para coincidir con la cámara de reacción del chip.

La figura 3.28 (b) muestra el dispositivo final fabricado. Poder incorporar todas las funciones necesarias para poder realizar la reacción en el interior del chip mediante un aparato tan reducido supone una enorme ventaja en términos de integración en el sistema. La incorporación del sensor en una zona tan cercana a la base de aluminio en contacto con la cámara de reacción permitió controlar de manera muy precisa la temperatura. Por lo tanto el diseño final cumple con todas las especificaciones necesarias para poder realizar la reacción, control de temperatura y sistema de vacío.

3.4 Cámaras de intercambio iónico

Como ya se ha comentado en el apartado 1.1.1, para realizar la síntesis del radiofármaco se emplean una serie de resinas de intercambio iónico en determinados momentos del proceso, concretamente para la fase de retención y de purificación.

La integración de estas resinas en un mismo dispositivo microfluídico supone una gran ventaja y una novedad indiscutible en comparación a otros sistemas que intentan alcanzar los mismos objetivos, especialmente si, como es el caso, nuestro sistema es desechable. De

esta forma, tenemos en un mismo dispositivo todos los módulos necesarios para realizar la síntesis, favoreciendo la eliminación de todos los contaminantes radiológicos a la vez. Por otro lado, al integrarse en un único chip se puede utilizar el sistema de válvulas diseñado para realizar el control de todas las fases de la síntesis: retención, marcaje y purificación.

La resina empleada para el proceso de retención es el metil amonio cuaternario (QMA) y es frecuentemente empleada en la síntesis del [^{18}F]FMISO. El QMA (Sep-Pak Light Plus, Waters) es una resina de intercambio aniónico fuerte (SAX) con grupos catiónicos en partículas de entre 35-55 μm de sílice de tamaño medio. Normalmente esta resina se activa con carbonato de potasio (K_2CO_3) y seguidamente se lava con agua desionizada antes de su uso. Para la elución concentrada de producto a la cámara también se emplea el carbonato de potasio.

Las resinas que se emplean den la fase de purificación son Alúmina, tC18 y SCX. La Alúmina es una de las resinas más comúnmente utilizadas en fase estacionaria junto el gel de sílice, en este caso se emplea para retener impurezas aniónicas, principalmente [^{18}F]fluoruro no reaccionado que queda en el producto final. Por otro lado, la resina SCX se emplea para retener impurezas catiónicas, especialmente retiene los restos de K 2.2.2, para evitar que puedan ser inyectados al paciente. Tras el paso del radiofármaco por estos dos componentes se considera que se han eliminado la mayoría de los reactivos tóxicos, quedando la muestra pendiente de validación. En el caso de que se precise un filtrado más exhaustivo se puede emplear la resina tC18, que debido a su hidrofobicidad, se emplea para absorber analitos apolares en soluciones acuosas. De esta forma, retendría en su interior el [^{18}F]FMISO que luego puede ser eluido con etanol. La tabla 3.1 muestra las características principales de estas resinas.

Tabla 3.1 Características principales de las resinas empleadas.

Compuesto	Accell Plus QMA	tC18	Alúmina N	SCX
Cap. intercambio iónico	230 $\mu\text{eq}/\text{gram}$	-	-	2 $\mu\text{eq}/\text{mL}$
Tamaño de partícula	37-55 μm	37-55 μm	50-300 μm	50 μm
Tamaño de poro	300Å	125Å	120Å	-
Solvente	Sílice	Sílice	Alúmina	Poliestireno
Hidrofílico	Si	No	Si	Si
Rango de pH	2 - 8 pH	2 - 8 pH	0 - 10 pH	-

3.4.1 Primeros modelos

En esta sección se realiza un resumen de los modelos fabricados para la utilización de las resinas en los cartuchos. Las pruebas iniciales se realizaron con la resina preconcentración QMA. Una vez decidido el método adecuado para integrar las cámaras de intercambio iónico, se procedió de la misma manera con las resinas de purificación, variando los volúmenes empleados.

El primer problema que surge es como conseguir mantener las reducidas partículas que componen este tipo de resinas en el interior de una cámara fabricada en PDMS. Se hacía necesario emplear algún tipo de filtro que permitiera el paso de los reactivos por las resinas, asegurando que estas permanezcan en su totalidad en la cámara.

La primera idea consistió en un filtro realizado con columnas de PDMS, de tal manera que la distancia entre las distintas columnas fuera menor que el tamaño mínimo de las partículas a retener. De esta forma se hicieron numerosos modelos a partir de este método, con distintos tamaños de cámara y de diámetro de las columnas. Los moldes que se emplearían para realizar los chips de PDMS se realizaron en SU-8 mediante las técnicas de fabricación de microsistemas. Los chips fabricados se cerraban mediante membranas de PDMS. La figura 3.29 (a) y la figura 3.29 (b) muestran estos chips.

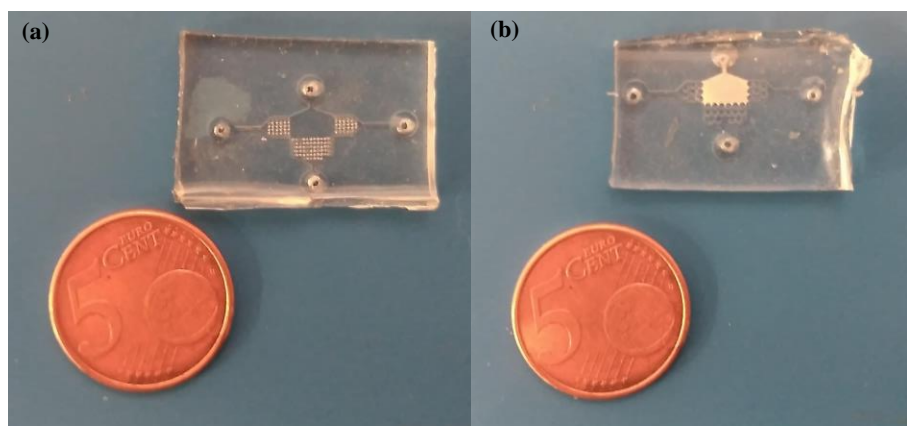


Figura 3.29 (a) Cámara de intercambio iónico de PDMS con filtro de columnas, sin rellenar. (b) Cámara de intercambio iónico de PDMS con filtro de columnas, rellena de resina QMA.

Una vez fabricados se introducía la resina en el interior. Para ello los chips disponían de una entrada y una salida diseñadas para tal fin. La entrada comunicaba directamente con la cámara que albergaba las partículas, sin ningún filtro de columnas que impidiera su inserción. Sin embargo se colocó un filtro antes de la salida que impedía que las partículas abandonaran la cámara. Para introducir la resina se hacía una disolución de la cantidad de partículas necesaria para llenar la cámara, en 2 mL de agua desionizada. La disolución se introducía en la cámara mediante una jeringa conectada a la entrada de llenado.

Uno de los problemas que se encontraron a la hora de realizar estos prototipos venía dado por la diferencia de tamaño de las partículas que se debían introducir. Tras analizarlas en el microscopio, se vio que las más pequeñas tenían un diámetro menor a las $40\ \mu\text{m}$ para el QMA. En la figura 3.30 (a) y la figura 3.30 (b) se pueden observar las mediciones tomadas con la ayuda del microscopio de dos muestras aleatorias de esta resina. Según las especificaciones del fabricante los tamaños de partícula van desde los 37 a los $55\ \mu\text{m}$.

Esto complicaba en gran manera la fabricación de las columnas, puesto que dichas dimensiones están muy cerca de la limitación de fabricación que se tienen con las técnicas que se emplean en el laboratorio. La fabricación de los moldes en SU-8 precisaba de paredes muy finas y a su vez se necesitaban mascarar fotolitográficas de alta precisión para realizar dichos moldes. Sin embargo, se consiguieron fabricar varios modelos que podían rellenarse de las resinas.

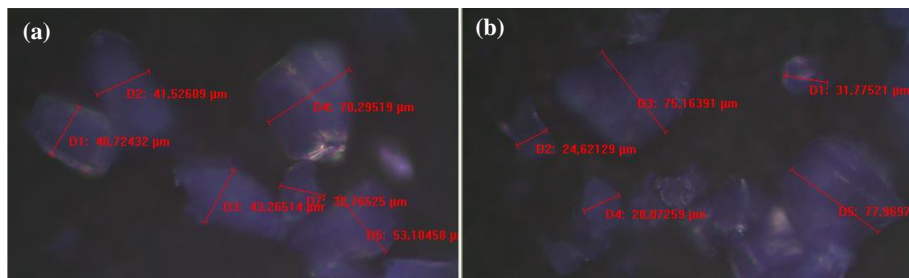


Figura 3.30 (a) Imagen al microscopio de las partículas de resina QMA, las medidas van desde los 32,8 μm hasta los 70,3 μm . (b) Imagen al microscopio de las partículas de resina QMA, las medidas van desde los 24,6 μm hasta los 78 μm .

Por otro lado, también surgieron problemas derivados de la flexibilidad del PDMS. Si el caudal de los reactivos empleados para utilizar el cartucho era muy elevado, las partículas tendían a desplazarse hacia la salida, debido principalmente a la deformación producida por la membrana que cerraba el chip. Esto derivó en que, en ocasiones, la compactación de las partículas aumentaba la resistencia fluidifica, impidiendo el paso del líquido. Además, algunas de las partículas más pequeñas terminaban deformando las columnas y pasando a través de ellas, lo cual producía obstrucciones en los canales de salida. Por todos estos problemas, terminó desechándose el uso este tipo de filtros, ya que se necesitaba que el dispositivo fuera robusto. Aun así, no se descarta retomar esta opción para futuras investigaciones, incorporando las mejoras pertinentes.

La siguiente opción que se barajó era utilizar los mismos filtros que se empleaban para los cartuchos comerciales e integrarlos de alguna manera en los chips microfluídicos. La figura 3.31 (a) muestra los cartuchos comerciales y los primeros filtros empleados. Siguiendo esta idea se realizaron varios modelos que utilizaban filtros comerciales para retener la resina en cámaras o canales fabricados en PDMS. La figura 3.31 (b), figura 3.31 (c) y figura 3.31 (d) muestran algunos de los modelos que se realizaron antes de llegar al prototipo final.

Mientras se resolvía el problema de la integración, se decidió continuar avanzando con otros parámetros importantes a especificar. Entre los más destacables estaban la cantidad de resina QMA necesaria para la retención de flúor y los volúmenes de reactivos que se requerían para la preconcentración y la elución.

Para ello se diseñaron unos cartuchos que servirían de aproximación al dispositivo final y que permitirían realizar las pruebas necesarias para conocer los anteriores parámetros. Estos cartuchos se realizaron mediante tubos de teflón de 3 mm de diámetro externo y 1,6 mm de diámetro interno. A partir de filtros de polietileno de 40 μm de poro se troquelaron dos filtros que se introducirían en los extremos del cartucho para retener la resina QMA, de 60 μm de diámetro medio de tamaño de partícula. Para rellenarlo se colocaba uno de los filtros en el extremo del tubo. Se introducían 10 mg de resina por el otro extremo del tubo y se compactaba aplicándole 1 kg de peso durante un minuto. El cartucho se cerraba con otro filtro. Finalmente se introducía en un chip de PDMS, cuyos canales comunicaban con

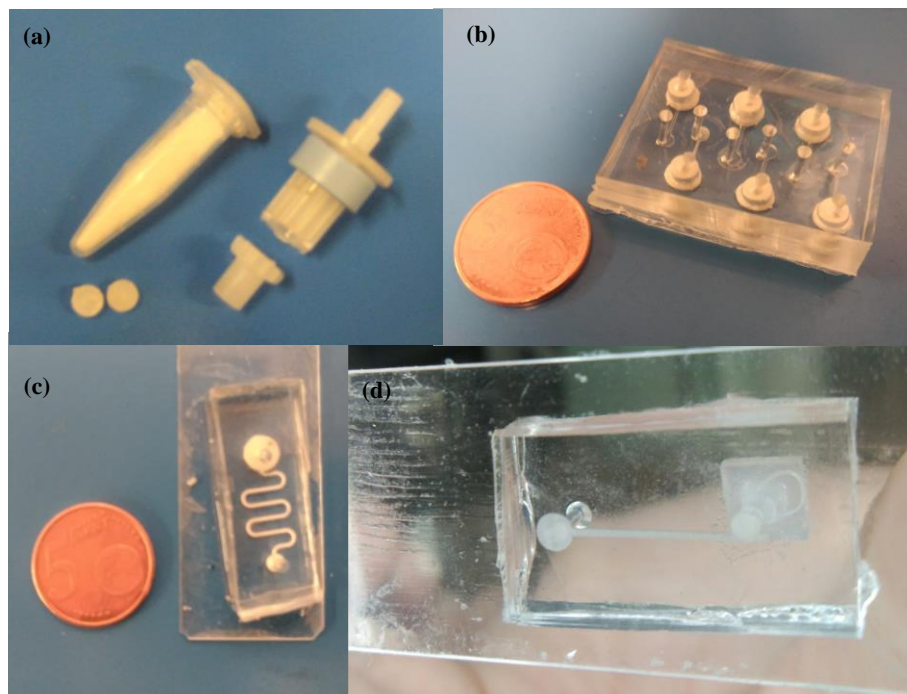


Figura 3.31 (a) Cartucho de QMA abierto de donde se obtenía la resina y los filtros que se empleaban para realizar los modelos microfluídicos. (b) Varias cámaras de intercambio iónico en un mismo chip. (c) Canal en forma de serpentín relleno de resina QMA con filtro comercial a la salida. (d) Canal recto relleno de resina QMA con filtro comercial troquelado introducido en el orificio de salida.

una cámara que albergaba el cartucho. Se realizaron pruebas de retención y elución, tanto de los cartuchos por separado como de los cartuchos en el chip de PDMS. El dispositivo se puede ver en la figura 3.32.

Con estos cartuchos se comprobaron los volúmenes de reactivos y de resina necesarios para la fase de preconcentración. Estos datos que serán muy útiles para las cámaras de retención definitivas.

3.4.2 Estructura final de las cámaras de intercambio iónico

Antes de integrar el módulo de retención en el chip de PDMS final, se decidió que la mejor manera de demostrar su funcionamiento era realizando las distintas pruebas separando este módulo del resto. Por ello, se fabricó una cámara de retención de PDMS aislada, que más tarde se incorporaría en el dispositivo final. Para un mejor entendimiento de cómo se procede a la fabricación de uno de estos módulos, se explicará para una única cámara de intercambio iónico. La diferencia principal con el dispositivo final es que estos módulos de retención y purificación conectan, mediante canales microfluídicos, con la cámara de

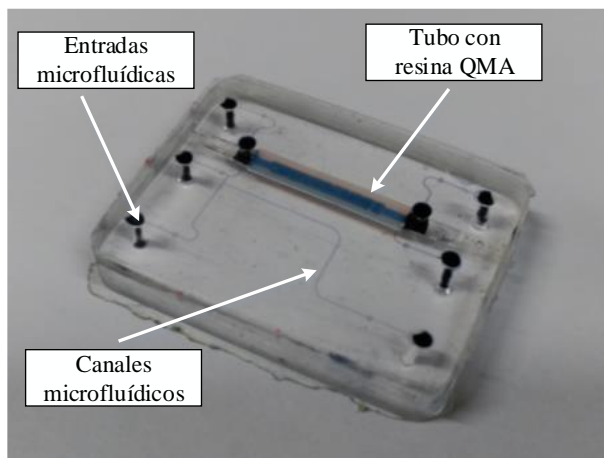


Figura 3.32 Tubo de teflón relleno de resina con filtros en los extremos. Se introduce en un chip de PDMS para realizar las pruebas. En los canales y en tubo se ha introducido tinta azul.

reacción. En el dispositivo final existen dos cámaras de intercambio que difieren en los volúmenes de resina que albergan, el procedimiento que se explica a continuación se refiere a la cámara de retención de [^{18}F]. En el Apéndice A se explica de manera más detallada este proceso de fabricación en el que se incluyen los tiempos de curado y otros parámetros importantes.

Para fabricarlo, se realizó un molde de SU-8 sobre PCB con canales de $150\ \mu\text{m}$ de alto y $500\ \mu\text{m}$ de ancho, que conectarían la entrada y la salida de chip con la entrada y la salida de la cámara de intercambio iónico. Sobre el PCB se coloca un encapsulado realizado con la impresora 3D, que contiene una barra de $1.55\ \text{mm}$ de diámetro y que se alinea con los anteriores canales. Se puede observar una imagen del encapsulado descrito en la figura 3.34 (a). Esta barra dejará un hueco en el interior del chip que será nuestra cámara de intercambio iónico. La longitud final del cartucho es de $9,5\ \text{mm}$. La figura 3.33 (a) muestra dicho molde.

El PDMS se vierte sobre el molde y se polimeriza en el horno, figura 3.33 (b). Al mismo tiempo, se fabrica la membrana de $50\ \mu\text{m}$ de espesor que cerrará los canales.

Para desmoldar el chip se extrae primero la barra que da forma a la cámara de intercambio y seguidamente se saca el chip del molde, figura 3.33 (c). Es entonces cuando se realizan los orificios de $2\ \text{mm}$ para la entrada y salida de fluidos y los que conectan los canales con el interior de la cámara. En estos últimos se introducen dos filtros de $20\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro y $2,2\ \text{mm}$ de diámetro (ExtraBond Scharlau). Estos filtros impiden que las partículas de resina salgan de la cámara, permitiendo el paso de los reactivos, figura 3.33 (d).

Una vez colocados los filtros, el chip de PDMS se coloca sobre la membrana y vuelve a introducirse en el horno para que se unan, figura 3.33 (e). De esta manera se consigue la unión permanente de ambas partes, figura 3.33 (f).

Tras la fabricación de la cámara, se procede a rellenarla. En el caso de la resina QMA ($60\ \mu\text{m}$ de diámetro, Waters) se hace pasar $2\ \text{mL}$ de agua desionizada con una disolución

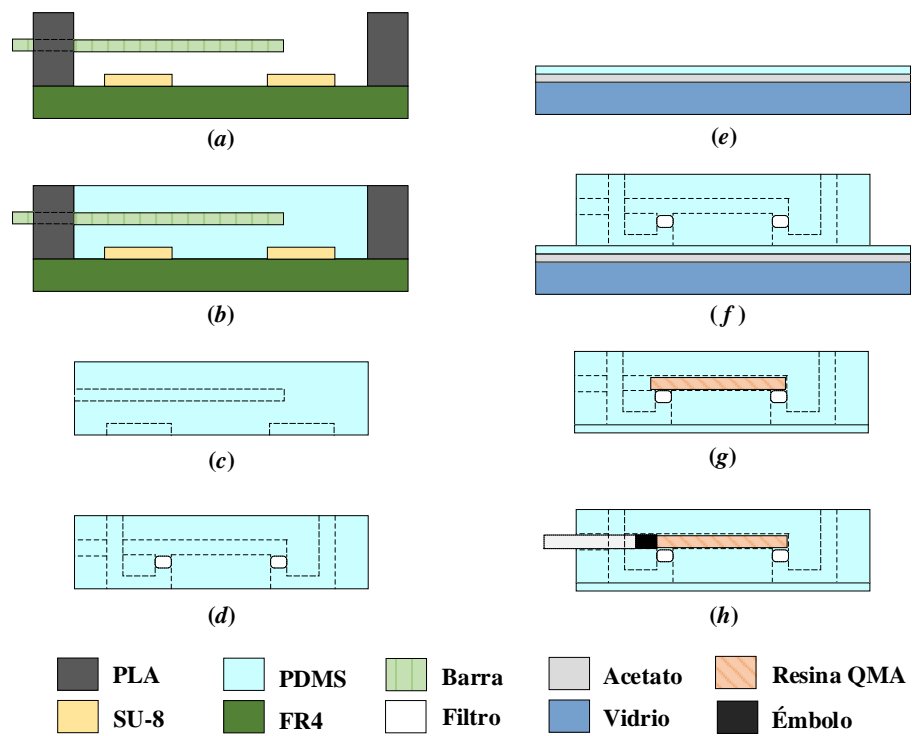


Figura 3.33 (a) Vista lateral del sustrato PCB con los canales de SU-8. Sobre el mismo se coloca el encapsulado de PLA y la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip. (d) Realización de los orificios y colocación de los filtros. (e) Superposición del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (f) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (g) Separación del chip microfluídico del acetato y relleno con la resina QMA. (h) Cerrado de la cámara con un émbolo de jeringa.

de 15 mg de resina a través de el orificio de llenado (que es que produce la barra que da forma a la cámara en el lateral del chip), figura 3.33 (g). Cuando toda la resina esta en el interior de la cámara se seca con aire y se cierra el orificio de llenado con un émbolo de jeringa, figura 3.33 (h).

La figura 3.34 (b) muestra el dispositivo fabricado siguiendo los pasos anteriormente descritos.

El proceso de fabricación para la cámara que alberga las resinas de purificación es muy similar al de retención. La diferencia principal recae en que, al ser cantidades mayores y introducir tres resinas distintas en una misma cámara, el tamaño es mayor. Por lo tanto, la barra que se emplea para fabricar este cartucho tiene 3 mm de diámetro y la longitud de la cámara una vez introducido el émbolo que la cierra es de 17,5 mm.

Para la integración en el dispositivo final se colocan ambas cámaras de intercambio

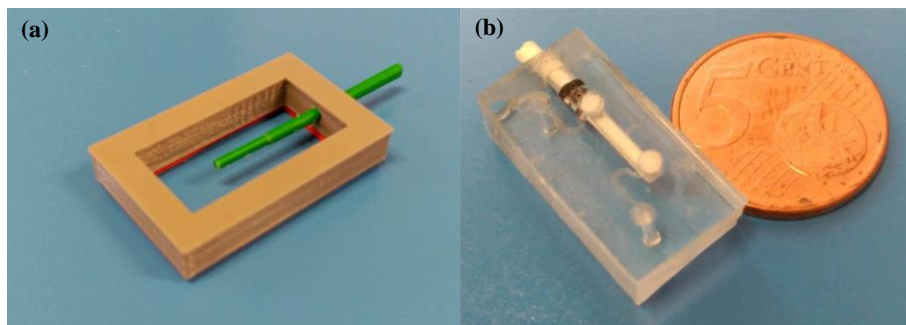


Figura 3.34 (a) Encapsulado de PLA fabricado con la impresora 3D y con la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) Chip de PDMS fabricado con una cámara de intercambio. .

iónico en los laterales de la cámara de reacción, y se conectan a la misma con sus respectivos canales.

En el caso de la cámara de retención posee un canal que servirá para introducir el [^{18}F] proveniente del ciclotrón en el interior de la cámara con resina QMA, de manera que los iones se retengan en la resina y se expulse el agua radiada por un canal de salida. Otro canal de entrada introduce el K_2CO_3 para eluir la cámara de retención y llevar los iones de [^{18}F] a la cámara de reacción.

En el caso de de la cámara de purificación, un canal proveniente de la cámara de reacción lleva el producto final hasta su interior. Las resinas filtran los productos no deseados que salen al exterior por un canal de salida.

Por lo tanto, en el chip microfluídico final, ambas cámaras tienen un canal de entrada y de salida para la carga del reactivo y otros canales de entrada y de salida para la elución del producto. Todas estas conexiones son controladas mediante sus respectivas válvulas realizadas con solenoides.

3.5 Monitorización del proceso

Uno de los principales problemas a resolver en este tipo de sistemas miniaturizados consiste en ser capaz de poder realizar una monitorización eficaz del estado del proceso y de esta manera poder realizar un control eficiente del mismo. Más concretamente, para el dispositivo que nos ocupa, la radiación puede suponer un escollo a la hora de actuar manualmente en cada momento de la síntesis, es por ello que la automatización basada en la realimentación supone una gran ventaja.

Existen parámetros más sencillos de medir que otros. Por ejemplo, la adquisición de la temperatura del calentador utilizado para realizar las reacciones se obtiene fácilmente mediante un sensor de temperatura, el cual permitió realizar el control de este módulo. Sin embargo, verificar la localización de los distintos reactivos en el interior de la plataforma microfluídica puede ser más complicado.

Es por ello que surgió la idea de emplear un sensor de radiación que fuera capaz de localizar el flujo de los diferentes reactivos que intervienen en los módulos que componen el chip microfluídico. Además, dicho sensor sería muy útil para evaluar el estado del proceso mediante la adquisición de los valores radioactivos en cada instante. De esta manera, se obtiene información importante sobre la reacción, la cual permite actuar contra cualquier funcionamiento anómalo del sistema [31].

Los sensores de radiación por los que se optó para llevar a cabo estas funciones fueron los fotomultiplicadores de silicio (SiPM) [88]. Son fotodetectores basados en semiconductores que son capaces de detectar los fotones de una fuente de radiación, generando a su salida una fotocorriente, que podrá ser de mayor magnitud dependiendo del número de fotones que impactan sobre su superficie. Estos dispositivos suelen emplearse para detectar radiación basadas en el efecto Cherenkov [51], el efecto Compton [10], la desintegración beta [37] y la interacción entre positrones y el silicio [45], lo que los hace muy útiles para medir la radiactividad a pequeña escala.

Con el fin de poder realizar este control sobre la producción del radiofármaco, se empleó una array de este tipo de sensores, colocada bajo el chip de PDMS. Así, la radiación de cada uno de los módulos que tiene el sistema era detectada por aquellos sensores del array que se situaban directamente en la parte inferior de cada módulo. Cabe recordar que los módulos que forman el chip son las cámaras de retención, de purificación y de reacción. De esta forma, el sistema podía saber los puntos en que la actividad se encuentra, permitiendo determinar la presencia o ausencia de la misma mientras se realiza la producción de radiofármacos.

Confirmar en qué módulo se encuentra la radiactividad de la muestra puede ser muy útil por múltiples razones. Por un lado, es interesante confirmar que al desplazar los reactivos desde un módulo a otro la mayor parte de la actividad abandona el lugar en el que estaba localizada. De esta forma confirmamos que la reacción se está realizando de manera eficiente, minimizando las pérdidas. Por otro lado, nos permite actuar sobre otros dispositivos del sistema en el momento adecuado. Por ejemplo, podemos mover el producto de la cámara de retención a la de reacción y accionar el cierre de todas las válvulas en el instante en que el sensor de radiación nos indique que toda la radiactividad se encuentra en la cámara. Al tener esta retroalimentación se consiguen reacciones más eficientes, ya que no accionamos el sistema de válvulas en un tiempo concreto, sino en el mismo instante en que el proceso lo necesita.

3.5.1 Sensor SiPM

Como se ha dicho en la sección anterior se han empleado una serie de fotomultiplicadores de silicio CMOS para controlar el flujo y la disposición de los reactivos en las diferentes fases de la radiosíntesis.

Los fotomultiplicadores de silicio son capaces de detectar la radiactividad en muestras para PET y SPECT del [^{18}F]FDG, entre otros. El array que se emplea es el ArrayC-30035-16P (SensL, Inc.), dicho dispositivo contiene sensores con diodos P-on-N que proporcionan una baja tasa de medición en la oscuridad y alta eficiencia para la fotodetección (Photo Detection Efficiency, PDE). El array está formado por 16 sensores SiPM con el cátodo

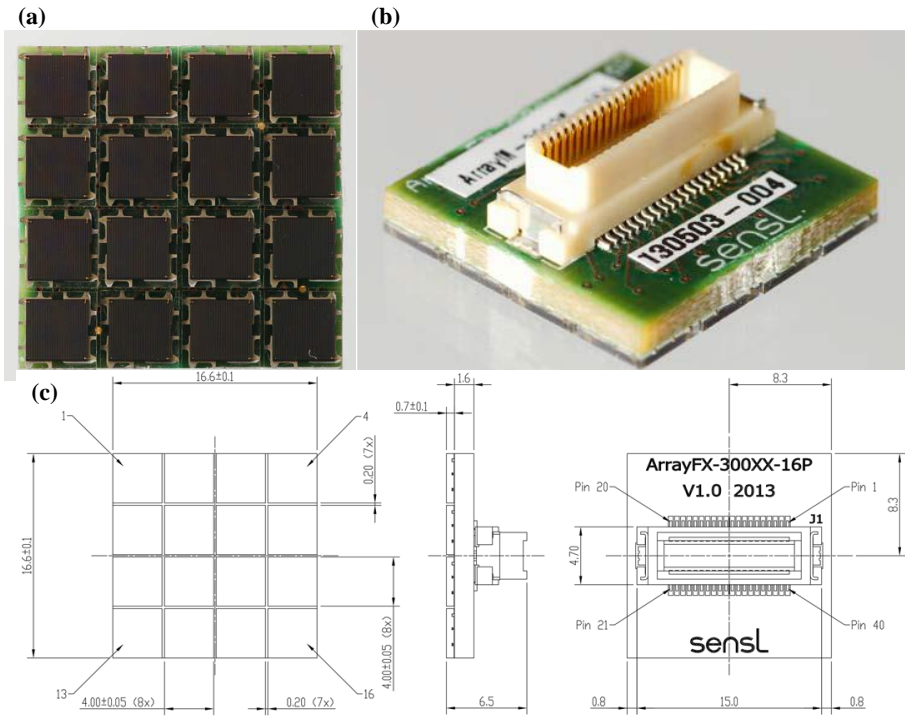


Figura 3.35 (a) ArrayC-30035-16p de SensL, compuesto de 16 píxeles MicroFC-30035. (b) Parte trasera del sensor, el conector empleado es el Hirose DF17(3.0)-40DS-0.5V(57). (c) Esquemático de las dimensiones del sensor.

común y los ánodos separados. Se dispone en una matriz de 4x4 sensores. La figura 3.35 (a) y la figura 3.35 (b) muestra el dispositivo mencionado.

Las dimensiones de cada sensor son de 3x3 mm y la separación entre cada uno de ellos es de 200 μm . Cada uno de estos sensores están formados por 4774 microcélulas, las cuales cubren el 64 % del área activa. Para estos sensores el PDE es del 31 % y la corriente de oscuridad es de 154 nA. Las dimensiones principales del sensor se observan en la figura 3.35 (c).

Según se muestra en la figura 3.36 los SiPM son más sensibles a los fotones de alta energía y de baja intensidad, dado a que su PDE para longitudes de onda bajas es mayor que para las altas. El PDE depende del voltaje de sobretensión al cual está diseñado el fotomultiplicador.

Cuando el dispositivo se emplea para contar fotones individualmente, la corriente de salida tiene un tiempo de subida de 0,6 ns y el tiempo de recarga de una celda es de 82 ns.

Los fotomultiplicadores están polarizados en modo inverso a un voltaje por encima de su voltaje de ruptura, en este caso 25 V. Estos sensores producirán un pico de corriente cada vez que un fotón alcance su área activa. Si todas las celdas se activaran al mismo tiempo (lo que no ocurrirá en un funcionamiento normal), la corriente máxima que podría

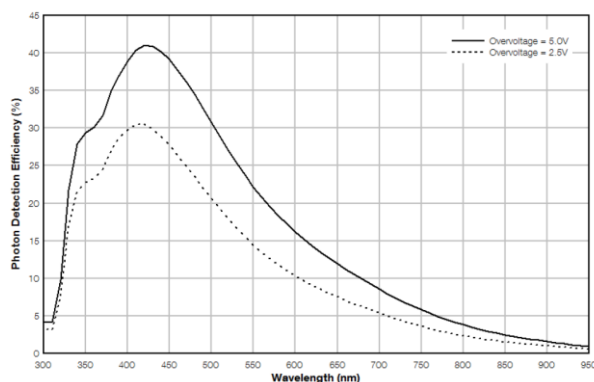


Figura 3.36 PDE frente a la longitud de onda para un sensor MicroFC-30035.

generar un solo sensor es de 27.94 mA.

3.6 Sistema integrado

En este apartado se explica cómo se integran los distintos módulos que se han descrito a lo largo del capítulo para configurar el sistema completo de generación de radiofármacos desarrollado. La figura 3.37 muestra un esquema de la conexión de todos estos módulos. La manera en que se realiza el control sobre los distintas partes del sistema se explica más detalladamente en el capítulo 4.

Todo el sistema puede ser gobernado por un ordenador que dispone de la programación en LabView que controla los diferentes módulos. Desde este programa se nos permite actuar sobre los módulos, mediante dos modos de funcionamiento, un modo manual, en el que podemos variar los parámetros a tiempo real y un modo automático, que mediante una programación previa, permite configurar el sistema con una serie de valores para realizar el proceso sin necesidad de interacción del usuario.

El programa en LabView controla dos partes. Por un lado, el sistema de impulsión de reactivos, que utiliza un regulador de presión controlado. Este regulador permite alimentar de aire comprimido cada uno de los viales que se encuentran en el soporte realizado con la impresora 3D. Una aguja unida a un tubo mediante un conector microfluídico llevará el reactivo desde cada uno de los viales al interior del chip. Ninguno de los reactivos se moverá de su vial a no ser que se accionen los solenoides correspondientes.

Por otro lado, el sistema LabView, realiza la comunicación con el microcontrolador para accionar el resto de módulos. De esta forma, gobierna el sistema de control y transferencia de calor y el sistema de vacío que permiten efectuar la síntesis del radiofármaco en el reactor. Además permite abrir o cerrar las válvulas correspondientes para introducir los reactivos en las cámaras de intercambio iónico o en el reactor. Todas estas partes se encuentran integradas en el encapsulado que alberga el chip microfluídico. Con el microcontrolador también se puede medir y localizar la radiactividad de las distintas zonas del chip mediante el sensor de radiación.

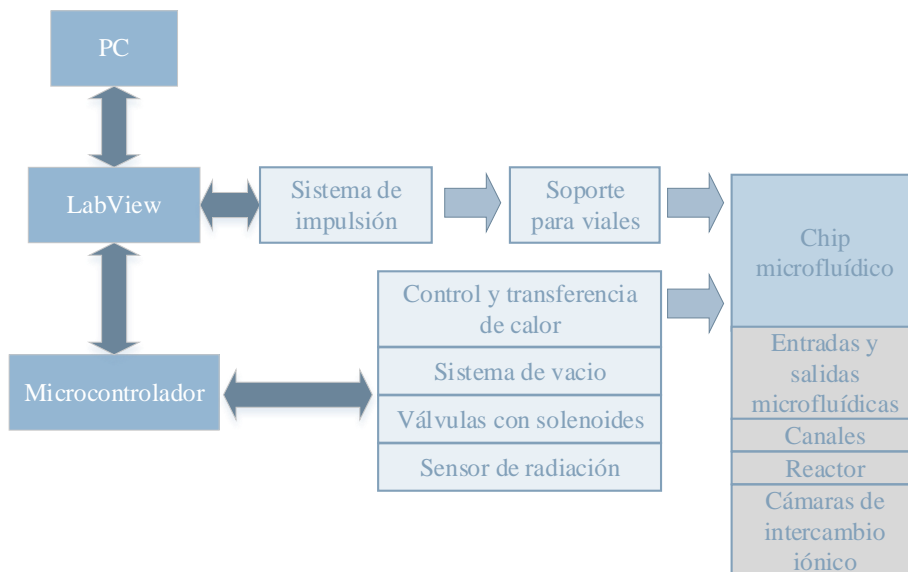


Figura 3.37 Esquema que reúne las diferentes partes que integran el sistema de generación de radiofármacos completo.

La figura 3.38 muestra la conexión de todos los módulos del sistema en el interior de la celda de dispensación del laboratorio de radiofarmacia del CNA. Para realizar la prueba, los cables de alimentación y de comunicación salen de la celda y esta se cierra herméticamente para poder trabajar con radiación.

Como se observa, la mayor parte de los módulos del sistema se integran en un dispositivo de reducido tamaño. Por lo tanto, se ha conseguido diseñar y fabricar un sistema compacto que facilita la descentralización en la generación del radiofármaco. Esto supone una importante contribución en la síntesis de este tipo de productos, haciendo que se minimicen las pérdidas producidas por el decaimiento de los radionúclidos y mejorando la eficiencia de la reacción.

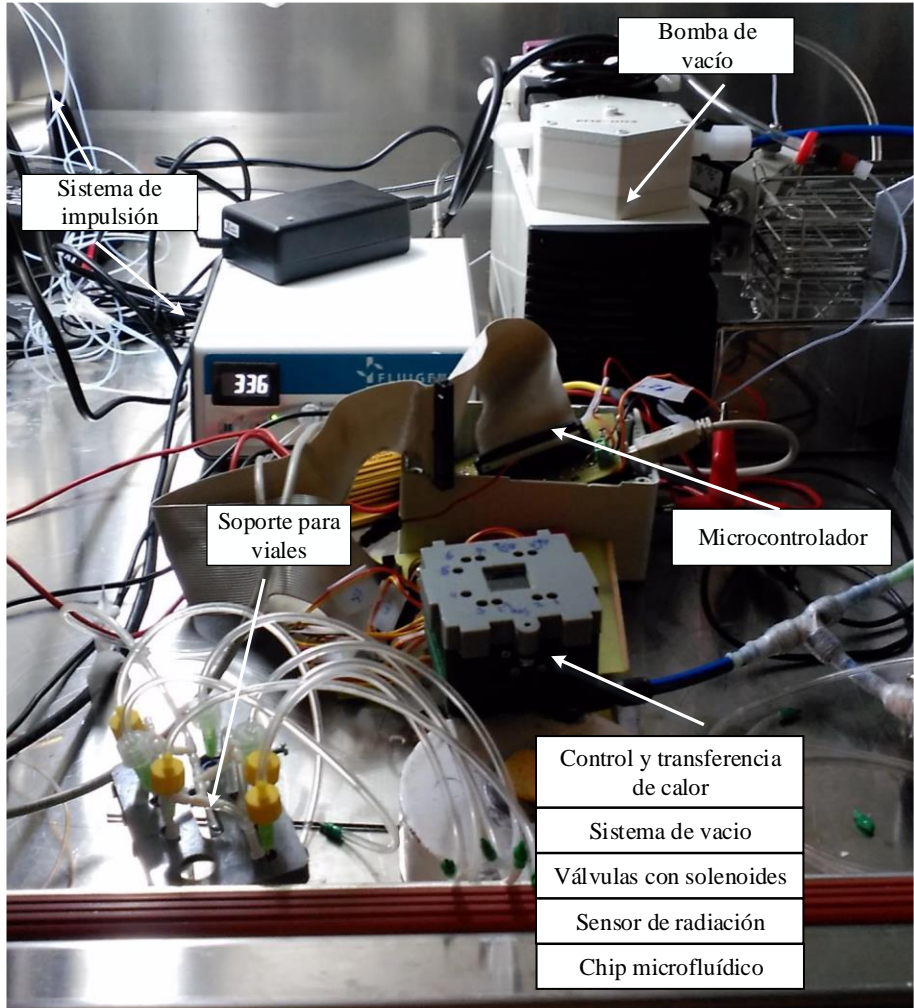


Figura 3.38 Imagen en la que se localizan los módulos del sistema, preparados para la realización de una síntesis.

4 Control y monitorización

Para la realización de los procesos químicos que se precisan para la producción de radiofármacos es esencial mantener un control preciso de todos los módulos que componen el sistema. En este capítulo se explican los pasos que se han seguido para conseguir la automatización del proceso y el hardware que se ha empleado para tal fin. También se analiza cómo se ha desarrollado la programación del software empleado para controlar los dispositivos. Además, se explica detalladamente el funcionamiento del control de flujo de reactivos y el control de temperatura. Por último, se aclara como se ha llevado a cabo la implementación de el sensor de radiación utilizado y la electrónica asociada al dispositivo. La (figura 4.1 muestra las entradas y salidas que se utilizan en el sistema para realizar el control.

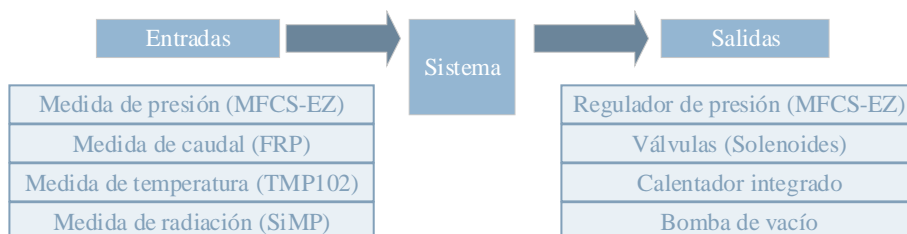


Figura 4.1 Entradas y salidas del sistema implementado, necesarias para la síntesis de radiofármacos.

4.1 Automatización del proceso

Uno de los objetivos principales del presente estudio es conseguir un sistema que pueda ser fácilmente manejado por personal médico no necesariamente familiarizado con procesos industriales complejos. Esta es una de las razones por las que se ha intentado partir de un control de proceso sencillo gracias a la implementación de un interfaz gráfico para el

control. De la misma manera, se ha buscado en todo momento la reducción de los costes de los componentes empleados para conseguir la correcta automatización del proceso.

En cuanto al interfaz elegido, se optó por la utilización de la plataforma LabView 2013 (National Instruments) [5]. Como es sabido, se trata de un lenguaje de programación visual gráfico recomendado para sistemas de control, que se basa en los llamados Instrumentos Virtuales o VIs. Una de las principales ventajas de este entorno radica en su facilidad de uso, ya que es válido tanto para programadores expertos como para iniciados en la programación. Además, permite incorporar código escrito en otro lenguaje de programación y trabajar con diferentes plataformas de hardware dentro de un mismo software.

4.1.1 Sistema Hardware

Para el control del hardware se optó por el empleo de un sistema embebido basado en las placas de desarrollo de Arduino. Existían multitud de alternativas para realizar el control del sistema. Finalmente se optó por Arduino por razones como su bajo coste y que incorpora la opción de poder ser utilizado junto a LabView. Además, tiene otras ventajas como que es un sistema basado en software y hardware libre, lo cual permite que existan multitud de librerías sobre otras plataformas.

Para poder realizar la programación del sistema es necesario instalar el kit de herramientas LabView Interface for Arduino (LIFA) [4], el cual que permite adquirir datos del microcontrolador Arduino y procesarlos en el entorno de programación gráfica de LabView.

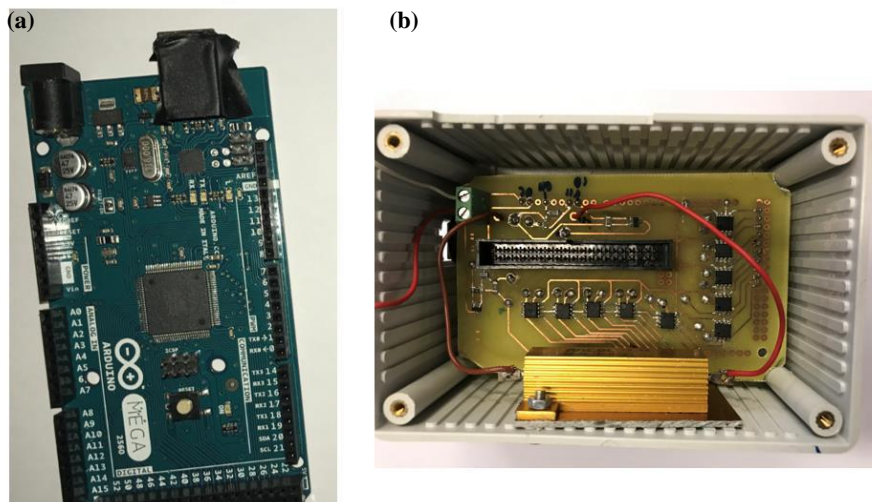


Figura 4.2 (a) Placa de Arduino Mega 2550 utilizada. (b) Placa auxiliar, para el control de los solenoides y la temperatura, que conecta con la placa de Arduino.

Dentro de la familia Arduino existe una amplia gama de placas en el mercado, entre las que cabe destacar la Arduino UNO, la Arduino Duemilanove y la Arduino Mega 2560, debido a que son las únicas que permiten integrarse en el entorno gráfico LabView. Se

optó por emplear el modelo Arduino Mega 2560 (figura 4.2 (a)) debido a que tiene el número suficiente de entradas y salidas para poder realizar las funciones necesarias. Como entradas se utilizan los puertos de comunicación I2C para el sensor de temperatura y como salidas, son necesarios 22 pines del microcontrolador, para controlar los solenoides, el calentador integrado y la bomba de vacío.

El microcontrolador escogido permite realizar el control de flujo de reactivos y de temperatura. Para controlar de flujo de reactivos se empleará el sistema de válvulas basadas en solenoides, que se explicó detalladamente en el apartado 3.2, y el control de presión de impulsión y de volumen impulsado de Fluigent, que se explicará en el apartado 4.2. El control de temperatura se basa en el sensado y el sistema de transferencia de calor, apartado 4.3.

La figura 4.2 (b) muestra la electrónica auxiliar que se conecta a la placa de Arduino y permite controlar las funciones anteriores. Para facilitar el rutado de esta placa auxiliar se han empleado algunos pines analógicos del Arduino Mega configurándolos como digitales por software. En la figura 4.3 se puede observar el pinout de Arduino donde se conectan los distintos componentes de la placa auxiliar.

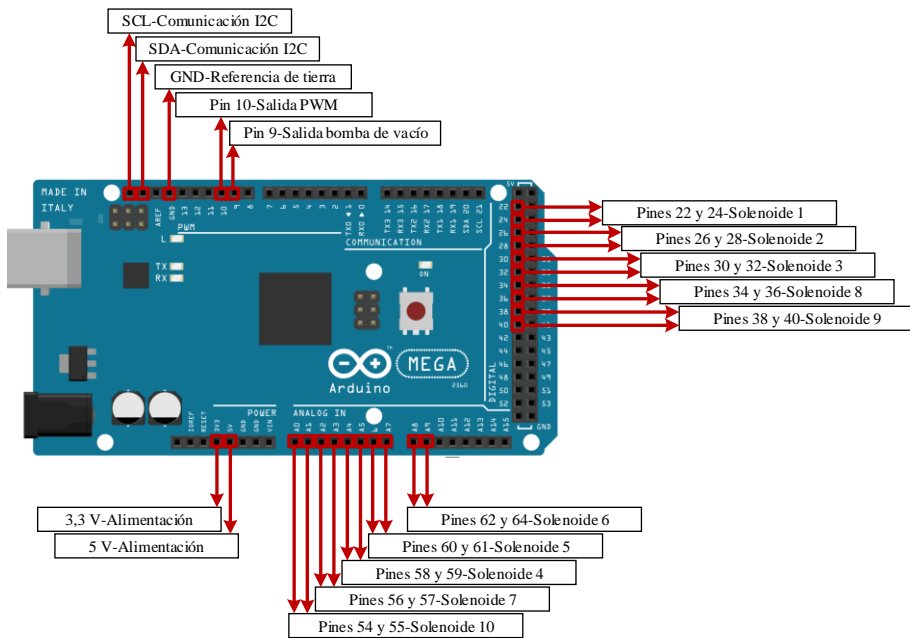


Figura 4.3 Pinout de la placa Arduino Mega 2550 empleada.

4.1.2 Sistema Software: Control en LabView

En esta sección se explica el funcionamiento de los bloques que conforman el software que gobierna los distintos dispositivos. Para la comunicación con el usuario se ha elaborado un panel frontal de trabajo que incluye todas las funciones que permite realizar el sistema. Por último, se describe la estructura de archivos que conforman el software y su funcionalidad.

Este sistema es capaz de realizar varias funciones. Entre ellas, puede efectuar el control del flujo de reactivos mediante el sistema de válvulas diseñado, pudiendo variar el caudal y el volumen del reactivo impulsado. También es capaz de regular la temperatura en la cámara de reacción mediante PWM y controlar el dispositivo que realiza el vacío para extraer los gases. Además dispone de dos modos de funcionamiento. Por un lado tenemos la posibilidad de emplear el modo manual, en el que se puede actuar sobre el sistema a tiempo real (por ejemplo, abriendo o cerrando una válvula o variando la temperatura del calentador). Este modo de funcionamiento ha sido muy útil para realizar las pruebas iniciales. Por otro lado se puede programar el modo automático, que permite configurar el sistema para realizar los distintos pasos de una síntesis. Además, el programa incluye indicadores que alertan del estado de cada uno de los procesos que se están llevando a cabo [38].

Para la comunicación de Arduino con la plataforma LabView será necesario incorporar una serie de programas desde el instalador de LabView (VI Package Manager). Los más importantes son las librerías que permiten la interfaz con Arduino. Para preparar Arduino para comunicarse con LabView será necesario cargar en la placa a través del IDE la librería `LIFA_Base.ino`. También serán necesarias librerías para la comunicación con Fluigent (`fluigentmfcs_series-3.3.0.1.vip` y `fluigentfrp1.1.1.14.vip`). De esta manera, se incorporarán a LabView todas las paletas necesarias para realizar la programación del sistema de control.

Panel frontal

Los denominados VIs constan de dos partes que se representan como ventanas separadas para desarrollar cada una de las funcionalidades. Por un lado está el panel frontal (Front Panel), que representa la interfaz con el usuario y que está formada por los botones, LEDs y el resto de controles e indicadores. Por otro, tenemos el diagrama de bloques (Block Diagram), que contiene todas las conexiones y circuitería que gestiona los elementos del panel frontal.

Para el control de este sistema se ha decidido implementar dos modos distintos de funcionamiento. Un modo manual, para poder manejar las distintas partes a tiempo real, y un modo automático, que permite una vez conocidos y programados todos los parámetros necesarios, realizar la síntesis completa sin necesidad de intervención por parte del usuario. Para acceder a ambos modos se ha diseñado un panel frontal que permite visualizar los distintos controles e indicadores que tienen efectos sobre el hardware. Por lo tanto, se ha decidido que la comunicación con el Arduino se haga mediante variables globales guardadas en el archivo `Global.vi`.

La figura 4.4 muestra dicho panel frontal del programa, se divide en diferentes partes dependiendo de la funcionalidad deseada, las cuales se describen a continuación:

- **Control de válvulas:** permite accionar las diez válvulas que componen el sistema de modo manual y muestran las ordenes enviadas durante el modo automático. Cada una de las palancas representa un solenoide. Cuando la palanca esta hacia abajo significa que el solenoide está cerrado y se encenderá el indicador correspondiente. Incorpora dos botones para abrir o cerrar todos los solenoides a la vez. También, se ha incluido en esta zona otro botón para accionar la ventilación de los gases.

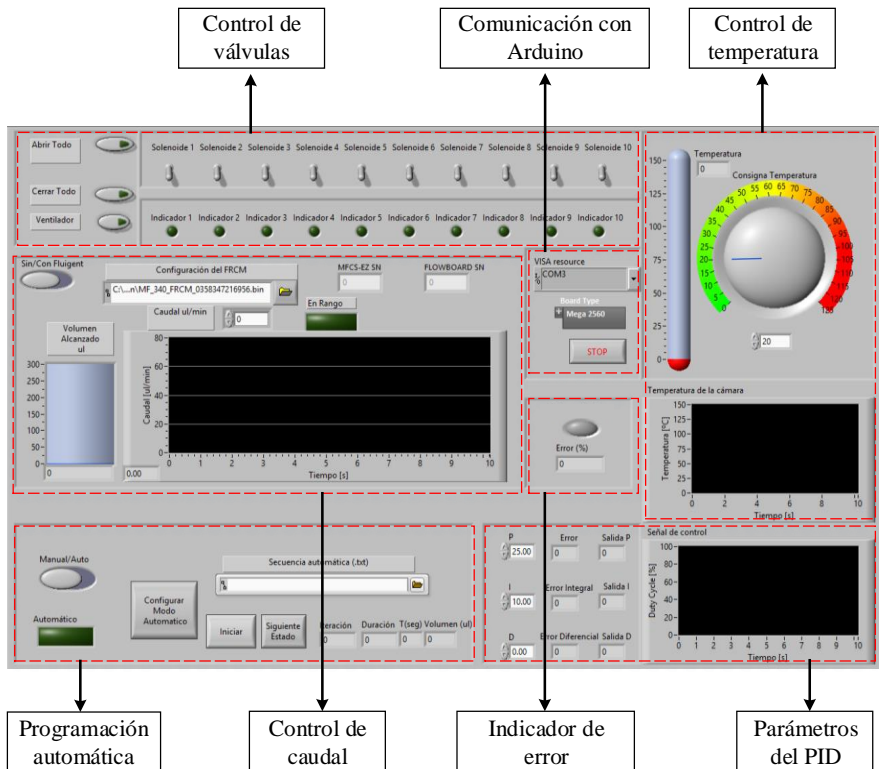


Figura 4.4 Panel frontal principal del programa para la interfaz con el usuario.

- **Comunicación con Arduino:** Permite escoger el puerto de comunicaciones que conecta con el sistema embebido y el modelo de placa de Arduino empleado. También incorpora el botón "STOP" que detiene la ejecución del programa, cerrando todos los bloques.
- **Control de temperatura:** Incorpora un selector que envía un Set Point de temperatura al calentador integrado, expresada en grados Celsius. Incluye un termómetro que permite visualizar la temperatura leída por el sensor en cada instante. Este valor también se representa en una gráfica situada en la parte inferior.
- **Parámetros del PID:** Permite variar los coeficientes del PID para la gestión de la temperatura mediante PWM. En la gráfica se muestra la evolución del duty cycle del PWM tras la actuación de PID.
- **Indicador de error:** Indica el porcentaje del error cometido entre la consigna de temperatura y la temperatura alcanzada.
- **Control de caudal:** Permite emplear el sistema Fluigent para controlar el caudal del reactivo empleado. En ocasiones se deseará realizar las pruebas sin la necesidad de controlar el caudal por lo que incorpora un botón que nos permite emplear Fluigent o no.

- Programación automática: Permite configurar e iniciar el modo de funcionamiento automático. Incorpora un botón para elegir entre manual o automático.

Modo Automático

En cuanto al modo automático, para poder activarlo es necesario configurar la secuencia en que se desea que actúen las diferentes partes del sistema. Para ello, en el bloque de programación automática se pulsa sobre el botón "Configurar modo automático" , con lo que se abrirá la ventana representada en la figura 4.5.

Una vez que se conocen los parámetros que intervienen en la síntesis de un radiofármaco concreto (temperaturas y tiempos de reacción, orden de los reactivos que intervienen, volúmenes necesarios...) este modo permite configurar el sistema para que realice todo el proceso de forma automática. Para ello, será necesario crear un fichero de configuración que incluya los valores de cada uno de los pasos que son necesarios para realizar la síntesis. Así, se pueden tener almacenados distintos archivos para procesos diferentes. Una vez programado y colocado el chip en su encapsulado, el usuario solo debe preocuparse de introducir los reactivos en sus depósitos y accionar la secuencia deseada.

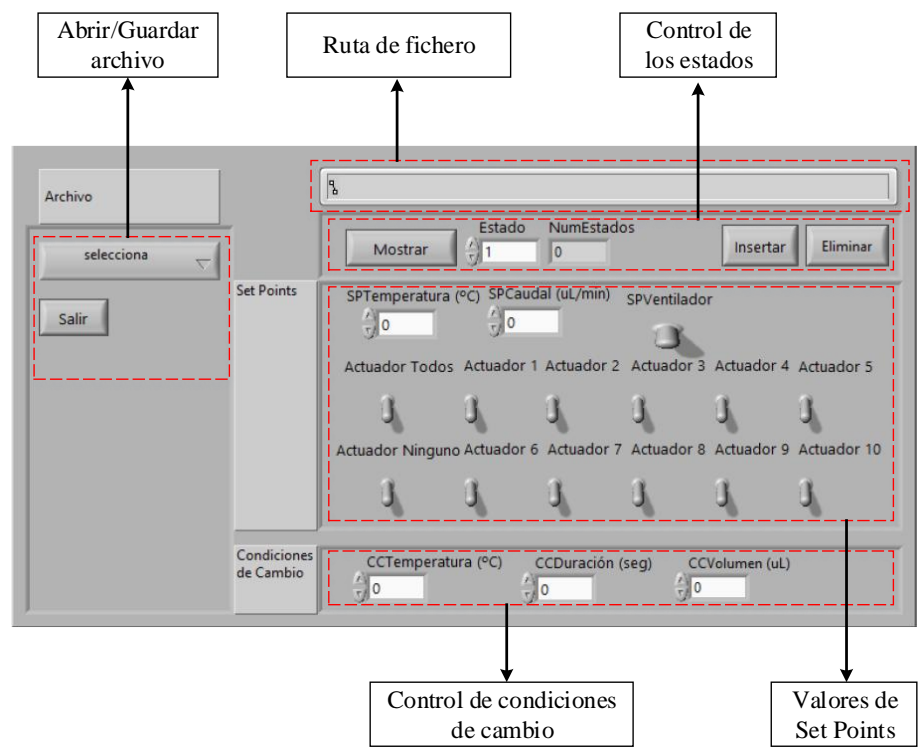


Figura 4.5 Panel de programación del modo automático.

Este panel de programación consta de diferentes partes para poder introducir en el sistema una determinada configuración. El proceso de programación consiste en crear un

fichero .txt que incluirá los set points que se deben alcanzar para pasar de un paso a otro del proceso, a partir de unas determinadas condiciones de cambio. Las partes principales de este panel son:

- **Abrir/Guardar archivo:** Mediante la pestaña "selecciona" podemos elegir entre abrir, guardar o crear una copia de un archivo de configuración. También incluye un botón "Salir" que permite volver al programa principal.
- **Ruta de fichero:** Contiene la ruta del fichero de configuración sobre el que se está trabajando.
- **Control de estados:** Con el selector "Estado" se puede seleccionar el estado sobre el que se quiere actuar. El indicador "NumEstados" muestra el número de estados que tiene el fichero seleccionado en cada momento. El botón "Mostrar" visualiza un estado concreto de la secuencia. Con el botón "Insertar" se crea un estado nuevo en la posición marcada por el control de estado. En caso de insertar un estado en una posición intermedia de la secuencia, los siguientes estados serán desplazados a la derecha. Por último, el botón "Eliminar" borra de la secuencia el estado seleccionado por el control de estado. En el caso de eliminar un estado en una posición intermedia de la secuencia, los siguientes estados serán desplazados a la izquierda.
- **Valores de Set Points:** En esta parte se eligen los valores de Set Points que se ejecutan durante el estado correspondiente. En este caso, se incluyen el valor de temperatura, el caudal, el extractor y los diferentes solenoides.
- **Condiciones de control:** Se han programado tres condiciones con las que el sistema cambia de estado: la temperatura del calentador, un determinado tiempo y el volumen que fluye por el Flow Unit. Todas se enviarán a la función `CondicionesCambio.vi` a través de su correspondiente variable.

Estructura de archivos y diagramas de bloques

Para propiciar una mejor funcionalidad del programa de control se han dividido los distintos diagramas de bloques en varios VIs. Esto supone una manera mucho más ordenada de trabajar en lugar de incorporar todos los diagramas de bloques dentro del panel frontal.

La figura 4.6 representa la estructura de ficheros completa que consta de el panel frontal (`FRONT PANEL.vi`), el modo automático (`ModoAutomatico.vi`), el fichero de definiciones globales (`Global 1.vi`) y una serie de ficheros para funciones. Lo más común en cada uno de los bloques es utilizar una estructura tipo *Case* para iniciarlo y una estructura secuencial paralela con bucles *While* o *For* para definir su funcionalidad.

El archivo `FRONT PANEL.vi` contiene una serie de diagramas de bloques cuyo posicionamiento dentro del archivo se muestra en la figura 4.7. Estos bloques se encargan de las siguientes funcionalidades:

- **Bloque 1:** se encarga de refrescar los valores de los indicadores del panel frontal principal.
- **Bloque 2:** al igual que el anterior, se encarga de refrescar los valores de los indicadores del panel frontal principal, la diferencia se encuentra en que en este se incluye

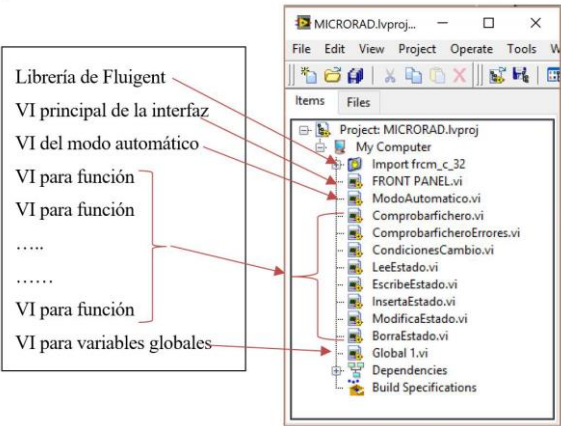


Figura 4.6 Estructura de archivos del programa.

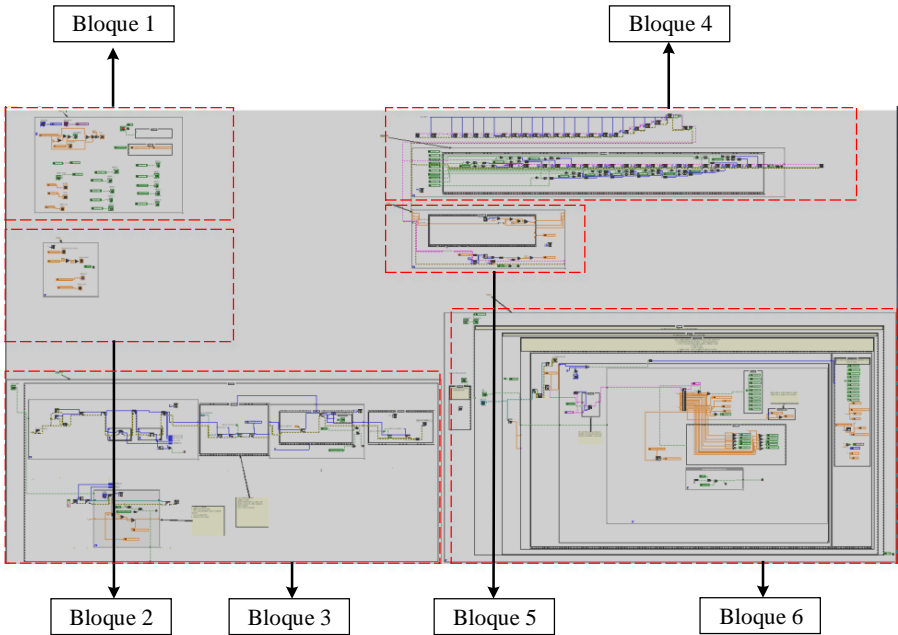


Figura 4.7 Situación de los distintos bloques de funcionalidad dentro del archivo FRONT PANEL.vi.

un tiempo de 10 ms en los que el valor se mantiene constante, de manera que es más cómoda la visualización de gráficas.

- Bloque 3: gestiona la comunicación con el panel frontal por medio de dos líneas de ejecución paralelas.

- Bloque 4: se encarga de la comunicación con el Arduino.
- Bloque 5: gestiona el PID para llevar la temperatura leída por el sensor hasta la consigna de temperatura.
- Bloque 6: tiene dos modos de funcionamiento independientes que son iniciados en función del valor de Manual/Automático.



Figura 4.8 Variables globales del sistema.

El archivo `Global.vi` contiene todas las variables globales que pueden ser empleadas por los distintos bloques del sistema. En LabView las variables globales son muy útiles cuando se pretende acceder y pasar datos entre varios VIs que se ejecutan al mismo tiempo. Las localizadas en la zona izquierda se utilizan principalmente para los bloques del panel principal, las que se encuentran a la derecha son las que se usan para el resto de VIs, especialmente los relacionados con el modo automático. La figura 4.8 muestra estas variables globales.

El archivo `ModoAutomatico.vi` tiene cuatro bloques que realizan una secuencia muy concreta cuya posición se muestra en figura 4.9. Primero se comprueba que el fichero es el correcto, si existen errores, se imprimen por pantalla, si no es así se ejecuta la función principal de cada bloque. Por último, se actualiza el fichero y se refresca el panel frontal. Más concretamente, estos bloques son:

- Bloque 1: corresponde a la opción `Mostrar` y su funcionalidad principal se localiza en `LeeEstado.vi`.
- Bloque 2: aglutina las opciones del desplegable que se abre al pulsar en `Selecciona`. Su funcionalidad principal se localiza en `ModificaEstado.vi`.
- Bloque 3: este bloque corresponde a `Insertar`. En este caso el programa imprime un mensaje de error en caso de que exista un comportamiento inadecuado. El estado

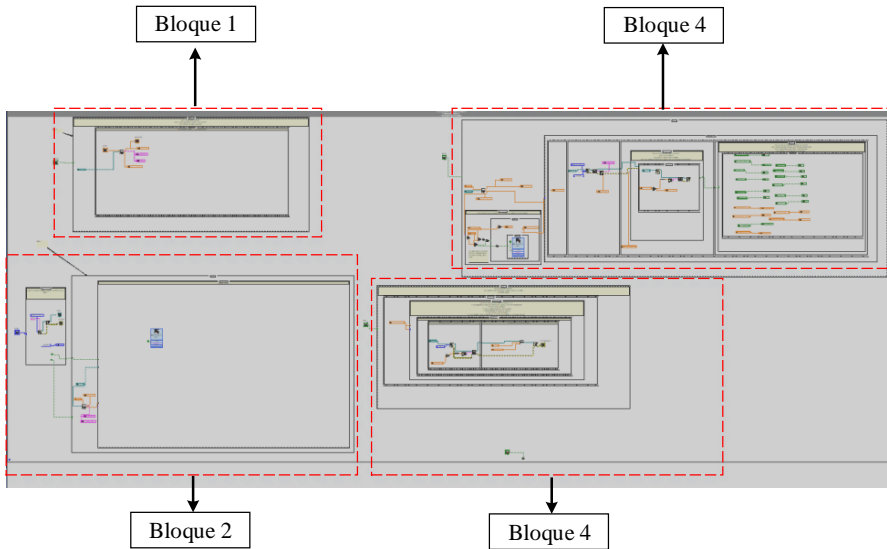


Figura 4.9 Situación de los distintos bloques de funcionalidad dentro del archivo `ModoAutomatico.vi`.

insertado implicará el desplazamiento de la secuencia. Los nuevos estados son enviados a `InsertaEstado.vi`.

- Bloque 4: incluye la función `Eliminar` para borrar un estado de la secuencia. El estado eliminado también implicará el desplazamiento de la secuencia.

Por último se describe el objetivo de los archivos para realizar las distintas funciones asociadas, todas estas funciones se emplean para poder programar el modo automático del sistema. Cada una de estas funciones, crea o modifica la diferentes entradas y salidas del proceso:

- `ComprobarFichero.vi`: se inicia al principio de bloque de `ModoAutomatico.vi`. Recibe la ruta al fichero y el valor del control "Estado" y devuelve un string con la secuencia completa, un entero con el número de estados del fichero y un entero que se usa como bandera de errores:
 - 0 : Si el fichero es correcto.
 - 1 : Si está vacío el fichero.
 - 2 : Si el path no es el correcto.
 - 3 : Si se quiere acceder a un estado fuera de rango.
- `ComprobarFicheroErrores.vi`: se lee a continuación de `ComprobarFichero.vi`, manda un mensaje de error si la bandera es distinta de cero.
- `CondicionesCambio.vi`: se inicia al comienzo de un nuevo estado y devuelve `true` cuando la primera condición de cambio se ha cumplido.

- `LeeEstado.vi`: Realiza la función principal de "Mostrar", recibe la posición del estado que se quiere leer y lo devuelve con las variables globales correspondientes.
- `EscribeEstado.vi`: Se utiliza en Insertar, Guardar y Guardar Copia para obtener un string de un único estado con los valores que aparezcan en `ModoAutomatico.vi`.
- `InsertaEstado.vi`: Recibe la ruta al fichero, el número de estados que tiene y la posición en la que se desea insertar el nuevo estado y devuelve la ruta del fichero actualizado.
- `ModificaEstado.vi`: Igual que `InsertaEstado.vi` pero en esta ocasión se asegura de reemplazar el estado que estaba en la posición marcada por el control "Estado".
- `BorraEstado.vi`: Parecido a los anteriores, pero al localizar el estado marcado por el control "Estado" continúa recorriendo el string sin haberlo guardado en el fichero actualizado.

4.2 Control de flujo de reactivos

Para poder realizar correctamente el proceso de síntesis del radiofármaco es necesario controlar de manera lo más precisa posible el volumen y el caudal de los reactivos que se van a desplazar por el interior del chip microfluídico. Por ello, se ha elaborado, mediante el sistema Fluigent, un control tanto de la presión de impulsión de los líquidos, como del volumen impulsado. Además, gracias a las válvulas basadas en el accionamiento de solenoides se consigue el control total de todos los reactivos que intervienen en el proceso. Todos estos módulos se integran en el software LabView para que puedan ser utilizados por el usuario.

4.2.1 Control de presión de impulsión y volumen

Para la impulsión de los fluidos empleados se barajaron varias opciones. Una de ellas era la utilización de bombas peristálticas capaces de mover pequeñas cantidades de líquidos. Estas bombas suelen comprimir tuberías flexibles mediante un mecanismo basado en ruedas que obligan a circular al líquido en la dirección de giro. Aunque existen ventajas en su utilización, como la baja probabilidad de fugas, también tienen inconvenientes, como la limitada vida de los materiales elásticos que utilizan.

Finalmente, para el control de los reactivos empleados se utilizan los equipos desarrollados por Fluigent. Esta empresa es líder en la comercialización de equipos para la manipulación de microfluidos. Estos elementos van desde controladores para la generación de microgotas hasta plataformas organ-on-chip.

Esta tecnología permite controlar los reactivos mediante la regulación de la presión ejercida. Para ello, se utilizan recipientes en los que se introducen los reactivos y que son impulsados mediante la presurización de los mismos. Esto permite utilizar cualquier fuente de presión de aire comprimido para impulsar los líquidos, lo cual supone una gran ventaja para el sistema que nos ocupa. La explicación a esto es que el sistema está pensado para ser utilizado en los centros de salud, que suelen incorporar este tipo de fuentes de

presión en sus instalaciones. Por lo tanto, la utilización de aire comprimido como método de impulsión simplifica la adaptación del sistema a los centros de salud y hospitales sin la necesidad de bombas externas.

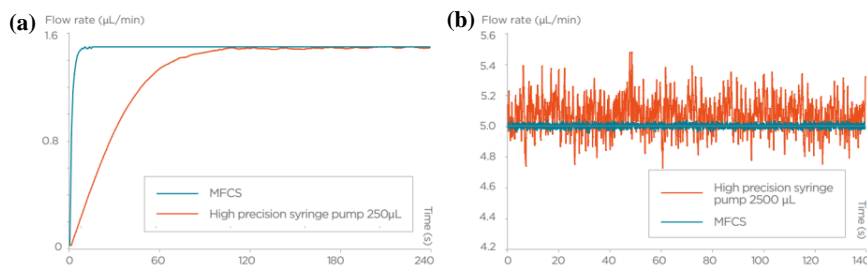


Figura 4.10 (a) Comparativa de la estabilidad del caudal del sistema de Fluigent con una bomba peristáltica de 250 μL . (b) Comparativa de la estabilidad del caudal del sistema de Fluigent con una bomba peristáltica de 2500 μL .

Para la regulación de la fuente de presión se utiliza un algoritmo patentado por la empresa Fluigent. En cuanto al software, MAESFLO se emplea para el control de las presiones de salida y el Flow Rate Control Module (FRCM) se utiliza junto con el circuito de realimentación para proporcionar de forma inmediata las presiones solicitadas con alta estabilidad. Por otro lado, la tecnología FASTAB incluye un algoritmo que controla la realimentación sin la necesidad de partes mecánicas, lo que aumenta la capacidad de respuesta. La figura 4.10 (a) y (b) muestra la estabilidad del sistema en comparación con las bombas peristálticas.

Control de presión de impulsión

Fluigent utiliza para controlar el flujo de impulsión en sus aplicaciones microfluídicas el Microfluidic Flow Control System (MFCS-EZ). Este dispositivo utiliza una entrada de alta presión para regular hasta cuatro salidas independientes que se emplean para impulsar los líquidos al interior del chip microfluídico. Este circuito se muestra en la figura 4.11. En el caso del MFCS-EZ que se utiliza en este sistema solo se dispone de una salida regulada, lo cual es suficiente puesto que el sistema de válvulas implementado permite controlar que reactivos entran en el chip en cada etapa.

La estabilidad en la presión de salida que ofrece este sistema es de menos del 0,1 %. Dependiendo de la velocidad del sistema operativo y del ordenador empleado, puede ofrecer un tiempo de respuesta de menos de 40 ms. En cuanto al gas que se puede emplear para la presurización, el fabricante indica que no debe tener propiedades corrosivas o explosivas, recomendando el uso de nitrógeno, argón o dióxido de carbono.

Control de volumen impulsado

En ocasiones, puede ser útil tener un control preciso del volumen impulsado, Fluigent emplea la Flow Rate Platform (FRP) para realizar esta tarea. Para ello, utiliza dos componentes, Flow Unit, figura 4.12 (a), y Flow Board, figura 4.12 (b).

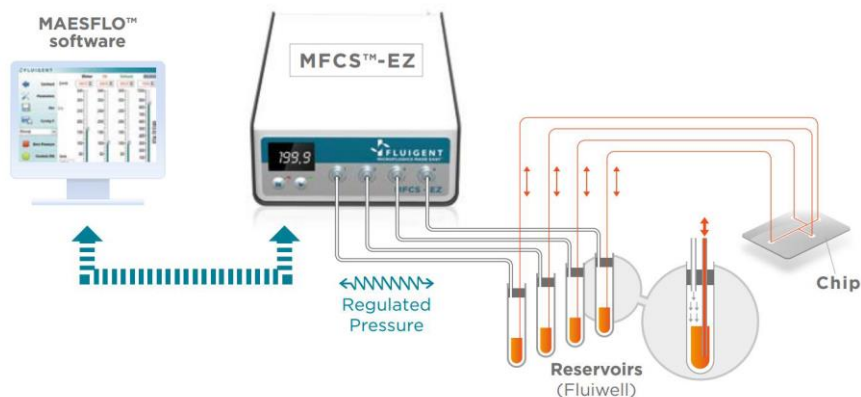


Figura 4.11 Montaje para experimentación con MFCS-EZ y el software MAESFLO.

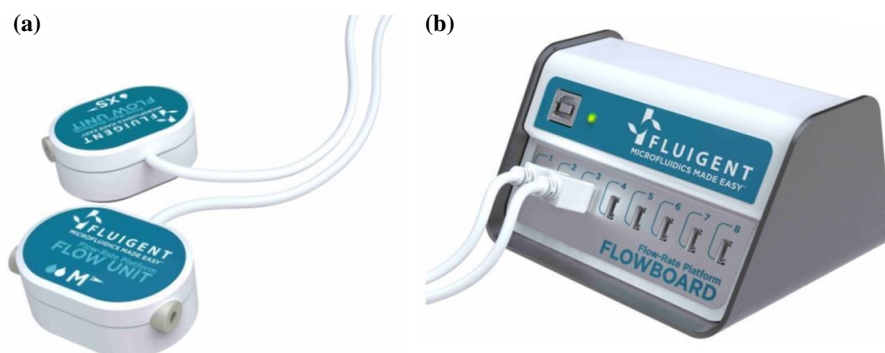


Figura 4.12 Partes del Flow Rate Platform. (a) Medidor de caudal o Flow Unit. (b) Plataforma para conectar los diferentes medidores o Flow Board.

Para su funcionamiento la Flow Unit utiliza la diferencia de temperatura de un microcalentador producida por el avance del fluido en el interior del canal. Dependiendo del caudal se producirá una variación en el gradiente de temperatura, que permitirá conocer la velocidad del líquido. La temperatura producida por este microcalentador es inferior a 1°C , por lo tanto no tiene prácticamente ningún efecto sobre el reactivo medido. Para medir la variación de temperatura incorpora dos sensores a cada uno de los lados del microcalentador. La figura 4.13 muestra el funcionamiento de la Flow Unit.

La Flow Board permite la comunicación de los diferentes componentes de medición de caudal con el software integrado. De esta forma, permite controlar tanto el caudal del líquido introducido, como el volumen empleado. Estos módulos proporcionan una realimentación al sistema Fluigent, que junto con el MFCS-EZ, permiten regular la presión de impulsión de las muestras empleadas realizando un control preciso del flujo de los

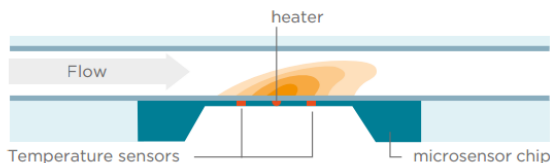


Figura 4.13 Obtención del caudal del fluido por parte de la Flow Unit.

reactivos al interior del chip de microfluídica. En la figura 4.14 se observa la conexión de las distintas partes del sistema para la realización de un experimento.

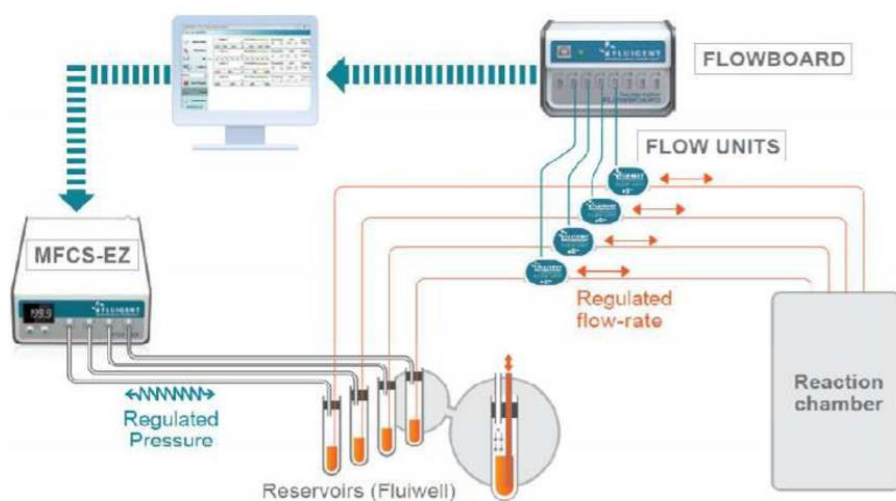


Figura 4.14 Conexión de los módulos de control de flujo del sistema Fluigent.

Hay que tener en cuenta que el rango de temperaturas para el que el sistema funciona correctamente va de los 10°C hasta los 50°C . Fluigent proporciona diferentes módulos que varían en el diámetro interno del capilar del sensor. En el caso del módulo adquirido para este estudio es un modelo M, el cual tiene un diámetro interno de $430\ \mu\text{m}$ y un volumen de $5,1\ \mu\text{L}$. El sensor empleado está basado en un vidrio de borosilicato que es alimentado a 5V.

La incorporación del módulo de medición de volumen no es imprescindible para el funcionamiento del sistema implementado. El sistema está pensado para poner las cantidades justas de reactivos en cada uno de los viales empleados para impulsar los líquidos. Sin embargo, se ha decidido incluir pensando en futuras aplicaciones.

Integración de Fluigent en LabView

Una de las principales ventajas del uso de Fluigent es su sencilla integración en el entorno LabView. La empresa proporciona los módulos VI necesarios para poder programar el

sistema, por lo que su inclusión en el control ya diseñado fue relativamente sencilla.

El primer paso a llevar a cabo será la calibración del sistema. Para ello, Fluigent incorpora un Wizard que permite configurar el límite superior e inferior de presión que suministra el sistema y así asegurar el caudal deseado. Tras las pruebas realizadas, se considera que un intervalo de 0 a 30 mbar permite caudales que van de 0 a 80 $\mu\text{L}/\text{min}$, suficientes para la impulsión de los reactivos sin llegar a saturar los sensores. Los cambios de temperatura pueden afectar al sistema, por lo que conveniente realizar calibraciones periódicas del mismo. La figura 4.15 muestra la pantalla de calibración.

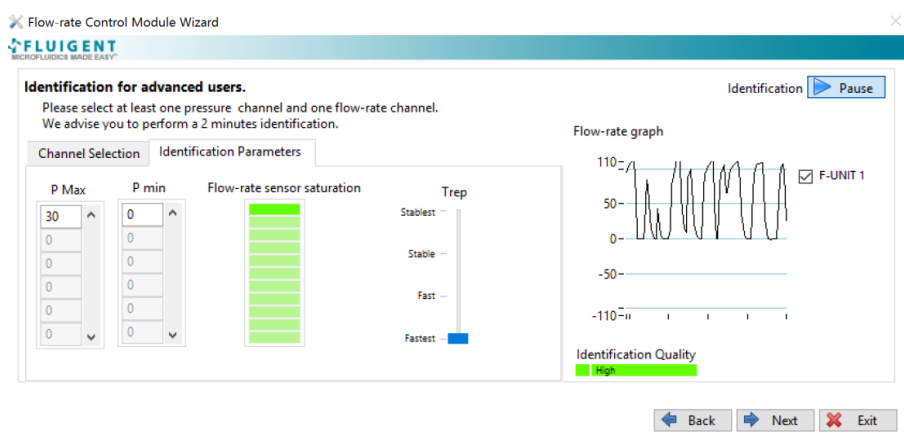


Figura 4.15 Ventana de calibración de la Flow Rate Platform mediante la aplicación Wizard incorporada.

La figura 4.16 (a) incorpora algunos de los códigos en LabView proporcionados por Fluigent que permitieron la integración en el sistema. Estos códigos se incorporaron a los VIs del sistema, con las modificaciones y adaptaciones necesarias. La figura 4.16 (b) muestra la configuración estable del módulo de control de caudal que se ha integrado en LabView.

4.2.2 Control del sistema de válvulas

Otra de las partes esenciales de la automatización del flujo de los reactivos es el sistema de válvulas desarrollado a partir de solenoides. Será imprescindible que el anterior método de impulsión, medida de caudal y de volumen, se coordine con el sistema de válvulas para conseguir un control total sobre los reactivos que deben introducirse en el chip microfluídico.

Para realizar el control es necesario gobernar los solenoides, de tal manera que se pueda conmutar la tensión de alimentación de 15 V entre sus terminales y que se produzca la subida o bajada del vástago que incorpora en su interior. Para ello, se emplean puentes H (BD6220) que se colocan en el circuito de la placa auxiliar. Los pines de control asignados a estos solenoides se conectan con cada una de las entradas de control de los puentes H, permitiendo la conmutación de la tensión de alimentación a partir de la ejecución de las

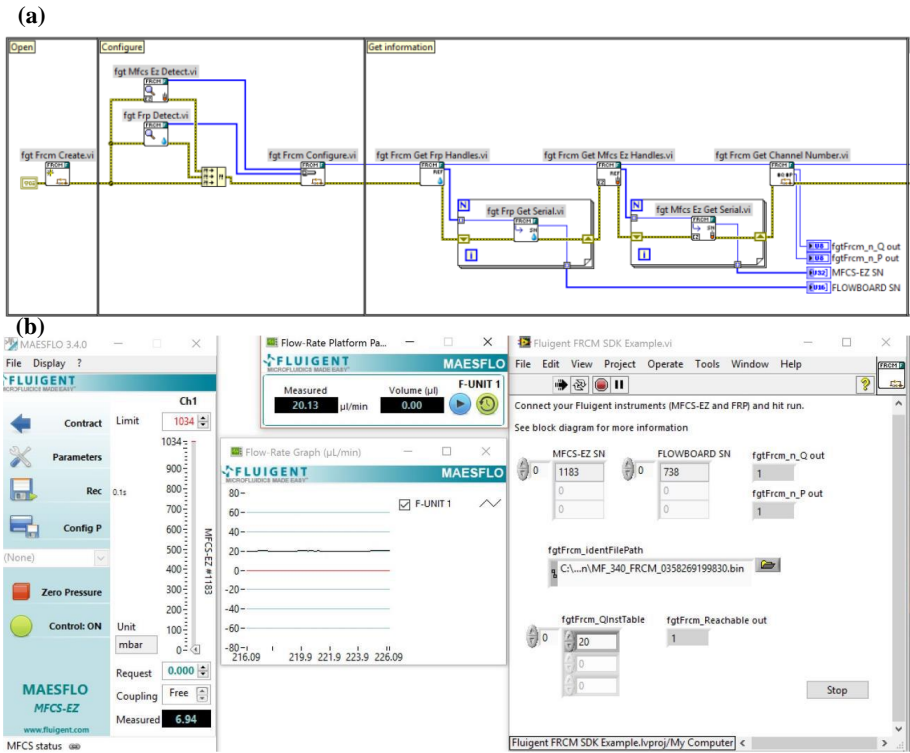


Figura 4.16 (a) Parte del diagrama de bloques de LabView proporcionado por Fluigent. (b) Respuesta estable de la Flow Rate Platform en el tiempo una vez calibrada.

ordenes de software. En la figura 4.17 (a) se observa la disposición de los pines de control escogidos.

Evidentemente, la placa auxiliar dispone de diez puentes H, uno para cada solenoide del sistema. Se han colocado de tal manera que faciliten su rutado en la placa. Es por ello, que los pines de control de los puentes H de la parte inferior, según se observan en la figura 4.17 (b), emplean los pines analógicos de Arduino, reconvertidos a salidas digitales.

En cuanto a su programación, están configurados de manera que, dependiendo de cuál sea el pin que tenga valor lógico alto, el solenoide estará en un determinado estado. Todos los pares de pines funcionan de la misma manera, si el pin cuya numeración es menor que la de su pareja tiene valor lógico alto entonces el solenoide estará bajado (cerrando el canal) y si ocurre al contrario la estará levantado (abriendo el canal). Por ejemplo, en el caso del solenoide 1, si el pin 22 tiene el valor "TRUE" y el pin 24 tiene el valor "FALSE", entonces el solenoide estará bajado y se cerrará el canal. La figura 4.18 muestra la programación en LabView de los distintos solenoides.

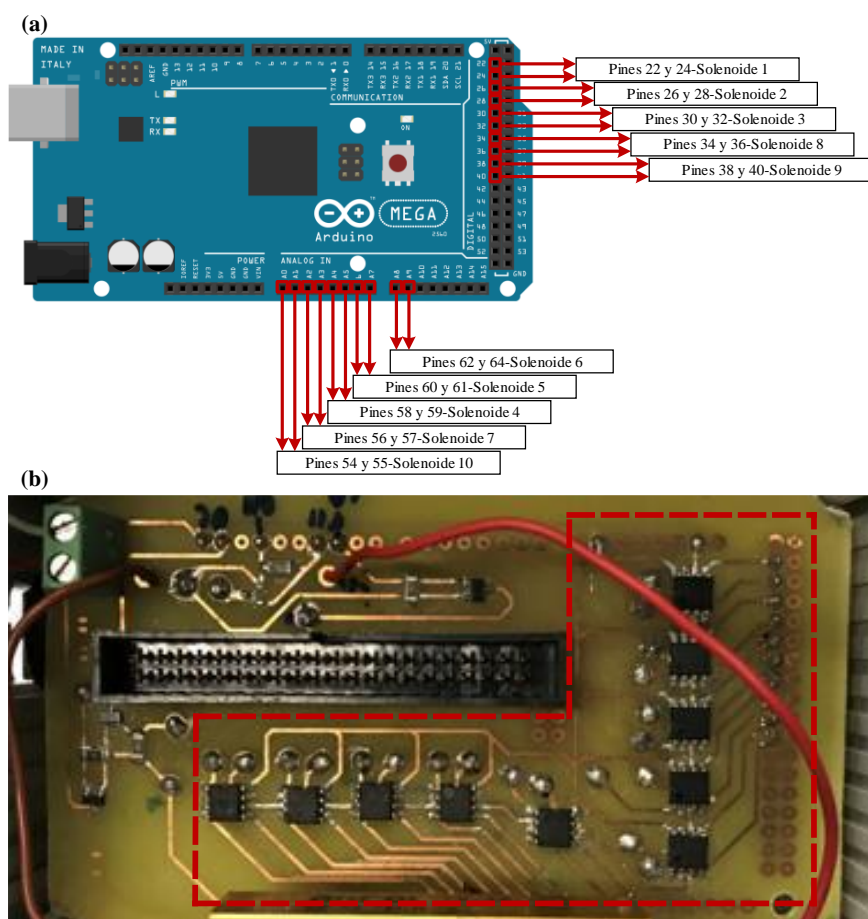


Figura 4.17 (a) Pines de control de cada uno de los solenoides. (b) Placa de circuito auxiliar donde se resalta la disposición de cada uno de los puentes H.

4.3 Control de temperatura y del sistema de extracción de gases

4.3.1 Medición de la temperatura

Para la medición de la temperatura se ha integrado un sensor TMP102, figura 4.19 (a) y (b). Como se explica en el apartado 4.3, este dispositivo se coloca en una pequeña cavidad del lateral del cilindro de aluminio que transfiere la temperatura a la cámara. Al estar colocado cerca de la base del cilindro que está pegada a la cámara, permite conocer de manera fiable la temperatura del reactor.

Este dispositivo es ideal para el remplazo de termistores NTC o PTC, en especial cuando

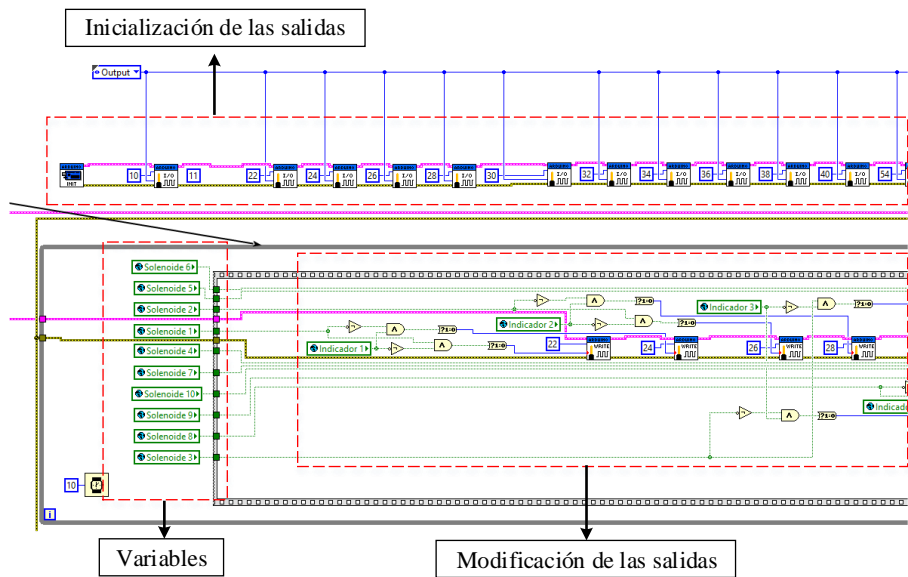


Figura 4.18 Parte de la programación en LabView en el que se muestran algunos de los pines de salida para el control de los solenoides.

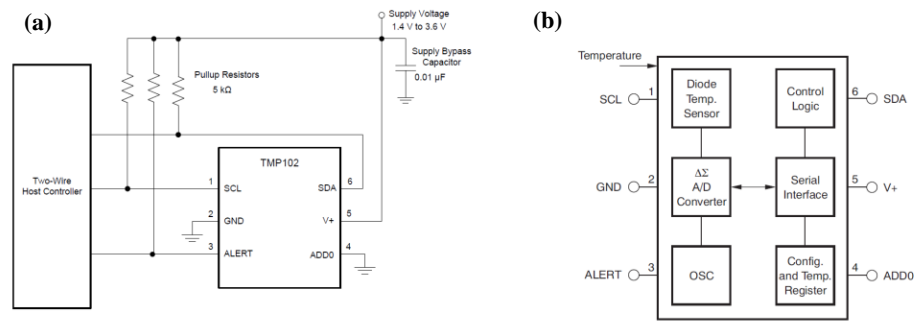


Figura 4.19 (a) Esquema simplificado para la conexión del TMP102. (b) Diagrama de bloques de los componentes del sensor de temperatura.

se necesitan medidas de alta precisión. La comunicación I2C (Inter-Integrated Circuit) que emplea se destina a la lectura del sensor de temperatura, los pines empleados a tal efecto son los de las señales SDA y SCL. El sensor se empaqueta en un SOT-563 y se alimenta a 3,3 V. Tiene una resolución de 0.0625 ° C gracias a su CAD integrado de 12 bits, una precisión de ±0.5 ° C en el rango de funcionamiento que va desde -40 ° C hasta 125 ° C. La figura 4.20 muestra los pines de conexión empleados para controlar el sensor.

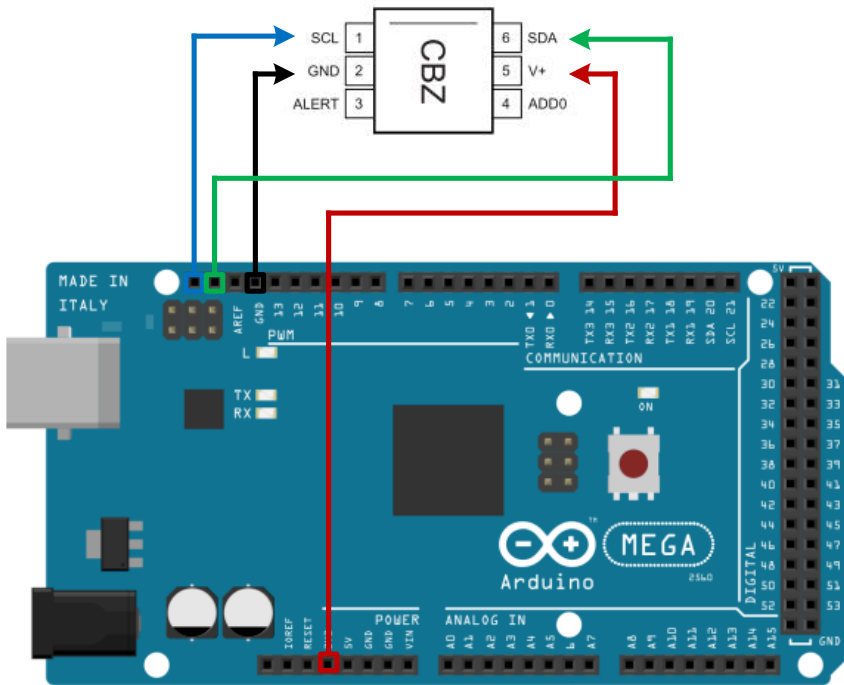


Figura 4.20 Conexión del sensor de temperatura TMP102 a la placa de Arduino.

4.3.2 Control del sistema de transferencia de calor

Para la regulación de la temperatura, el sistema debe controlar la corriente que atraviesa el serpentín resistivo a partir de la lectura obtenida por el sensor de temperatura y del valor de set-point definido por el usuario. Para ello, se ha programado un controlador PID en LabView.

El pin 10 del Arduino se utiliza para graduar el calentador mediante la salida PWM que integra la placa. La figura 4.21 muestra el circuito que se emplea para poder controlar la temperatura del calentador. Para su diseño se ha utilizado un transistor MOSFET de canal N (BSR802N L6327) y una resistencia de montaje de superficie de $10\text{k } \Omega$ colocada entre la puerta y la fuente del transistor. Esto se conecta al calentador que tiene una resistencia de $1,4\text{ } \Omega$ y que tiene en serie una resistencia de disipación de $3,3\text{ } \Omega$.

Para realizar el control sobre el calentador se ha programado en LabView el control PID. El ajuste del control se ha realizado de manera manual, para ello, se ha incrementado P hasta que la salida del lazo oscila. Luego se ha establecido este parámetro a la mitad de dicho valor (en este caso 25) y seguidamente se ha incrementado I hasta que el proceso se ajusta en el tiempo requerido (este valor se ha fijado en 10). Si es necesario, se puede aumentar

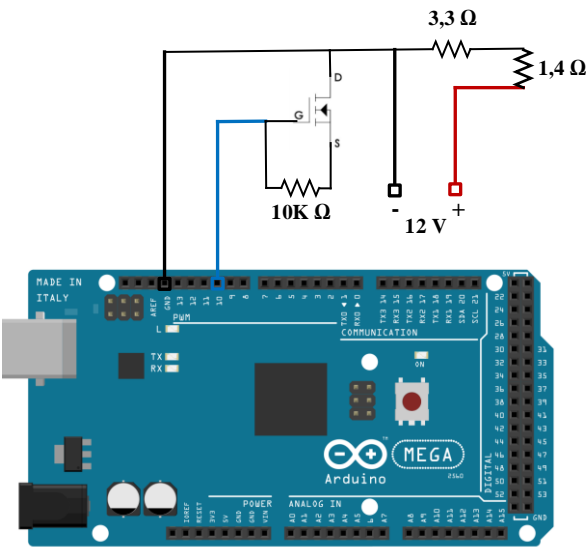


Figura 4.21 Conexión de control de la temperatura del calentador.

D para para que el sistema sea lo suficientemente rápido para alcanzar su referencia tras una variación brusca (para este caso se ha dejado en 0).

4.3.3 Control del sistema de extracción de gases

Para realizar el control sobre el sistema de extracción de gases se emplea un circuito con relé que se conecta a la bomba de vacío (Sykam S1021) y que es controlado por la placa de Arduino.

El relé empleado (KY-019) puede controlar dispositivos que trabajan a 220V mediante una señal de control de 5V proporcionada por Arduino. El PCB que contiene el relé ya dispone de los diodos y optoacopladores necesarios para su funcionamiento. Para el control del relé se emplea el pin 9 de Arduino. La figura 4.22 muestra la conexión de esta parte del sistema.

4.4 Sensado de radiación con SiPM

En este apartado se explica el circuito que se ha empleado para la realización de las pruebas con el sensor de radiación SiPM, para la medición y captura de datos de radiactividad [88]. Hay que tener en cuenta que únicamente se han realizado las pruebas preliminares y es necesaria la futura integración de dicho sensor en el sistema. Aun así, las pruebas realizadas indican un funcionamiento correcto y su implementación final no supondrá grandes dificultades.

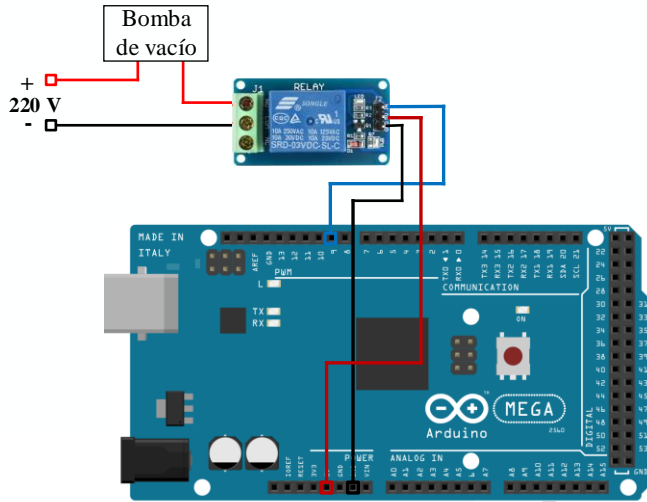


Figura 4.22 Conexión de control del sistema de extracción de gases.

4.4.1 Electrónica asociada

En términos matemáticos, la corriente en un SiPM viene dada por:

$$I_p = R P_{in} \quad (4.1)$$

Donde R es la capacidad de respuesta a la longitud de onda, P_{in} es la potencia de entrada entrante e I_p es la fotocorriente generada en el SiPM.

La fotocorriente máxima emitida por cada píxel está determinada por la relación:

$$Q = I_{max} \tau \quad (4.2)$$

Donde τ es la constante de tiempo de recarga de una microcélula (aproximadamente 82 ns) y Q es la carga eléctrica (expresada en Culombios). Por lo tanto, se verifica que la salida generará una corriente y necesitará un acoplamiento de señal para transformarla en tensión.

La figura 4.23 muestra las partes más importantes del circuito de medición. El sensor se alimenta a 27 V con polarización positiva por una de las salidas comunes.

Para registrar las 16 señales utilizando un multiplexor, se usó el 74HC4067 de Nexperia. Este multiplexor 16:1 usa la lógica CMOS en sus entradas de control (proporcionadas por el sistema integrado); puede recibir señales analógicas o digitales en cada canal y su tiempo de propagación es de aproximadamente 8 ns, por lo que es adecuado para su uso en el sistema diseñado. Sin embargo, se necesita una señal de tensión adecuada para la captura de datos, ya que el sistema integrado precisa de valores de tensión digitales.

Para el sistema implementado, el multiplexor funciona de la siguiente manera: se activa una entrada específica del multiplexor, seguidamente, este canal se cierra y el siguiente se

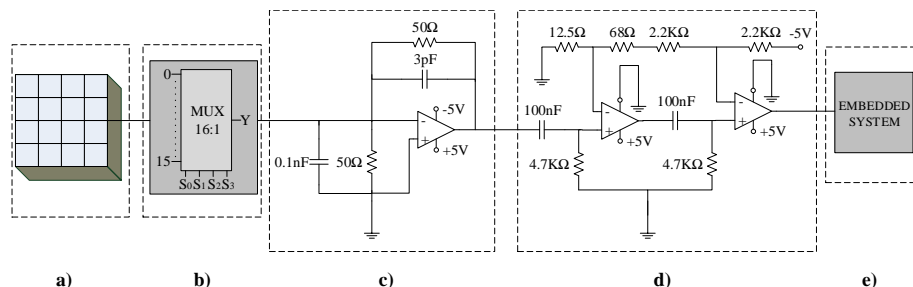


Figura 4.23 (a) ArrayC-30035-16p. (b) Multiplexor. (c) Circuito de conversión de corriente a tensión. (d) etapa de amplificación. (e) Sistema embebido.

activa, y así sucesivamente, con los 16 canales correspondientes a cada uno de los píxeles de la matriz SiPM.

Para la conversión de la corriente a tensión de la fotocorriente generada, se usa un amplificador operacional configurado en modo de transimpedancia (TIA OPA656, Texas Instruments). Para mantener un acoplamiento de impedancia adecuado, se elige un modelo con suministro simétrico. Para el presente caso, se utilizó una resistencia de realimentación de $470\ \Omega$. Sin embargo, este valor puede modificarse dependiendo de si se requiere una señal de tensión más alta o más baja en la salida del TIA. Finalmente, la señal de salida TIA se convierte en un valor lógico digital que se puede medir con un microcontrolador simple. Esto se hace usando un amplificador de riel-to-riel (OPA2354, Texas Instruments), este modelo ha sido elegido porque tiene un ancho de banda de 500 MHz en ganancia única y funciona bien para señales en una frecuencia inferior a aproximadamente 12MHz en su configuración de inversor.

En cuanto a esta detección de picos, la finalidad del amplificador es funcionar a modo de comparador, entregando a la salida un voltaje que pueda ser interpretado por el microcontrolador como un 0 o 1 lógico.

En primer lugar realiza una comparación en donde la tensión de salida del TIA es comparada con la tensión de referencia ($-30\ \text{mV}$ aproximadamente). De esta manera, cuando a la salida del TIA se presente un pulso menor que $-30\ \text{mV}$ se obtendrá 0 V a la salida de la primera etapa del comparador. En caso contrario, se obtendrán 5 V.

En segundo lugar realiza otra comparación entre la tensión de salida del primer amplificador y una tensión umbral de $-170\ \text{mV}$. Esta segunda comparación se realiza porque existe la posibilidad de que se presenten dos pulsos en el mismo instante a la salida del TIA (dado que el ancho de banda de este es mayor que la del comparador) y es posible que dichos pulsos se atenúen a la salida de la primera etapa. Además, si se presentan estos dos pulsos, en lugar de presentarse 0 V a la salida de la primera etapa, es posible que se presentase un valor intermedio (que se puede interpretar como un 0 o un 1 lógico) y se podría producir una pérdida de pulsos. La utilidad de esta doble comparación se puede observar en la simulación representada en la figura 4.24. Se observa que, para frecuencias altas, la señal de producida por la primera etapa (roja) no llega a los 0V cuando llega una cuenta al sensor. En cambio la segunda etapa corrige este error y proporciona una señal

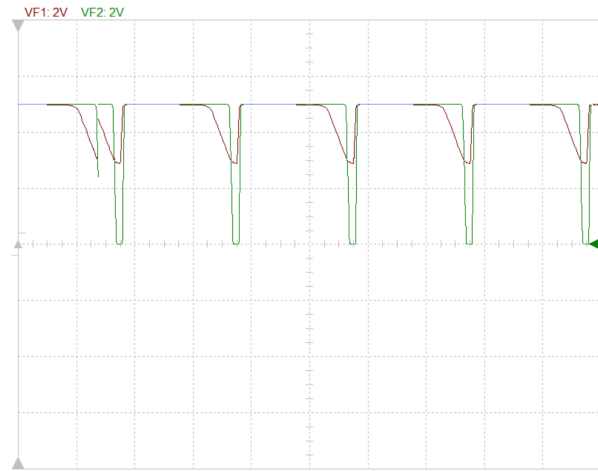


Figura 4.24 Empleo de la segunda etapa de comparación realizado con un amplificador Riel-to-Riel OPA2354. En rojo la salida de la primera etapa, en verde la de la segunda. Realizado en TINA..

que corresponde a los umbrales señalados (0 a 5V, 0 o 1 lógico) y que permite la correcta identificación de un pulso por parte del sistema embebido.

El usuario puede definir el tiempo de captura de conteos para un píxel en el sensor. De forma predeterminada, este valor se asigna en un segundo.

Todos estos componentes se montaron y probaron en una placa de pruebas, como se observa en la figura 4.25, quedando como trabajo futuro de la presente tesis su implementación en PCB e integración final con el resto del sistema. En el Apéndice B se puede observar el esquemático del circuito implementado.

De igual manera, se debe integrar en LabView los distintos módulos para el control total del sistema. Para la realización de las pruebas que confirman el correcto funcionamiento del sensor de radiación se utilizó una placa Arduino UNO para la adquisición de los datos del sensor. En el Apéndice C se puede observar el empleado para estas pruebas.

La programación de este sistema embebido realizaba dos funciones principales. Por un lado, pretende proveer las entradas de control del multiplexor (S1, S2, S3 y S4). Para ello, el código realiza un barrido binario y ubica, a la salida del multiplexor, la señal correspondiente del píxel analizado en cada instante. Una vez terminado el tiempo, comienza a analizar el siguiente píxel, hasta obtener los 16 valores.

La otra función consiste en llevar la cuenta de los pulsos que se detectan en un determinado tiempo a la salida del amplificador riel-to-riel para un píxel en concreto. Para ello, se emplea una rutina de interrupción, la cual incrementa un contador cuando se detecta un cambio de señal (de 5V a 0V).

El software muestra por el puerto serie tres valores: el canal que estaba analizando, el número de muestras detectadas en dicho canal y un contador que indica el momento en que se detecta un cambio de actividad brusco. Todos estos datos se almacenan en un fichero mediante el programa Putty para poder ser procesados posteriormente.

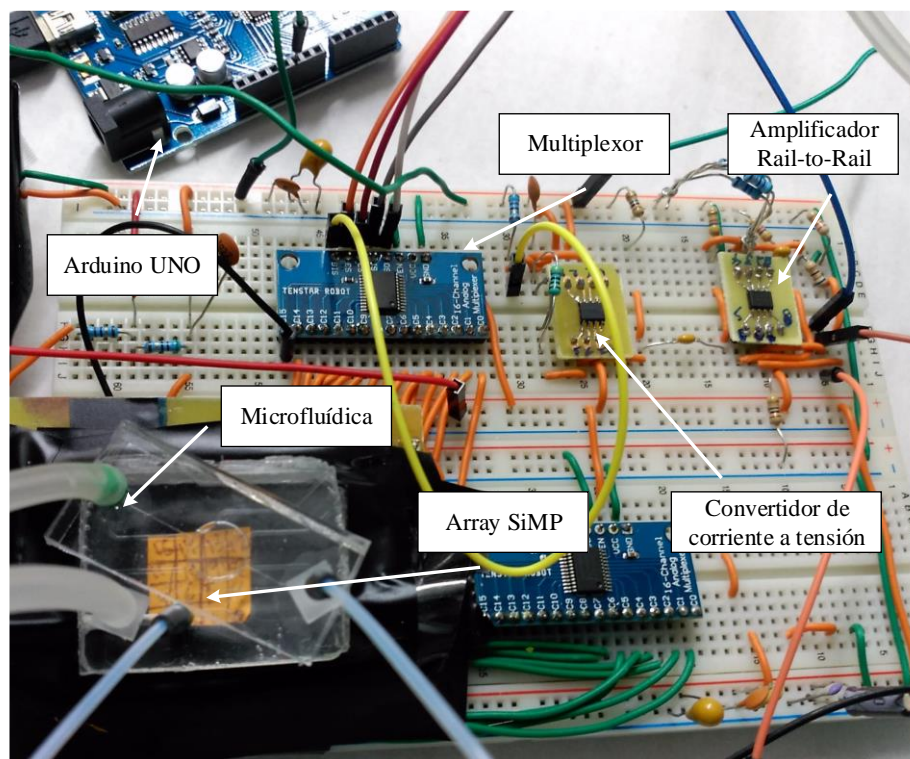


Figura 4.25 Montaje de las diferentes partes del sistema sobre una placa de pruebas.

Este sistema de detección de las cuentas de radiación mediante picos de corriente supone una aportación importante a la hora de medir la posición de los reactivos en las distintas etapas de la síntesis. Esta contribución permite verificar de manera adecuada y precisa el estado de la reacción en cada instante, proporcionando información útil al usuario del estado del sistema. Por tanto, supone una novedad más que permite mejorar de manera importante todo el proceso.

5 Pruebas y resultados

Este capítulo se enumeran los resultados más importantes obtenidos durante el proceso de validación de los diferentes módulos que conforman el sistema de generación de radiofármacos propuesto. Se valida el funcionamiento de los módulos de retención y de purificación integrados en el chip de PDMS. Se describen las pruebas realizadas con el módulo de reacción hasta conseguir su funcionamiento óptimo y se confirma cómo el material de fabricación elegido es el adecuado para fabricar el chip microfluídico. Se confirma el correcto funcionamiento del sistema de control programado en LabView. También se describen las pruebas que determinan el comportamiento del sensor de radiación y se explica la utilidad de su integración en el sistema. Por último, se describen las diferentes pruebas realizadas para alcanzar el objetivo final, la síntesis de un radiofármaco empleando el sistema propuesto en esta tesis.

5.1 Módulos de intercambio iónico

En esta sección se explican las pruebas realizadas con los módulos de intercambio iónico. Se enumeran las pruebas sobre la cámara de retención y se confirma que la función es la deseada. También se evalúa la cámara de purificación y se describen las pruebas para integrar el volumen necesario de resinas de purificación en su interior.

5.1.1 Cámara de retención

El objetivo de las pruebas experimentales es verificar que la cámara retenga los iones de [^{18}F] con un rendimiento adecuado. Los dos parámetros más importantes a medir para demostrar un funcionamiento correcto de la cámara son la tasa de retención de [^{18}F]fluoruro en la resina y la tasa de elución [80].

Como se explicó, en la fase de retención, los iones de [^{18}F]fluoruro interactúan químicamente con la resina QMA, por lo que, idealmente, todos estos iones deben permanecer en la resina después de dicha fase. Durante la fase de elución, se utilizará una pequeña cantidad de reactivo para desprender los iones de la resina y preconcentrar el producto.

En este caso, para que la cámara de retención funcione correctamente, la mayor parte del $[^{18}\text{F}]$ fluoruro debe ser extraído de la resina.

Todas las mediciones de la presencia y cantidad de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se realizaron con un calibrador de dosis (CRC-Ultra de Capintec, Inc.) y se anotan los tiempos exactos de las mediciones para que los valores medidos se corrijan con el decaimiento radioactivo conocido de los iones de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro.

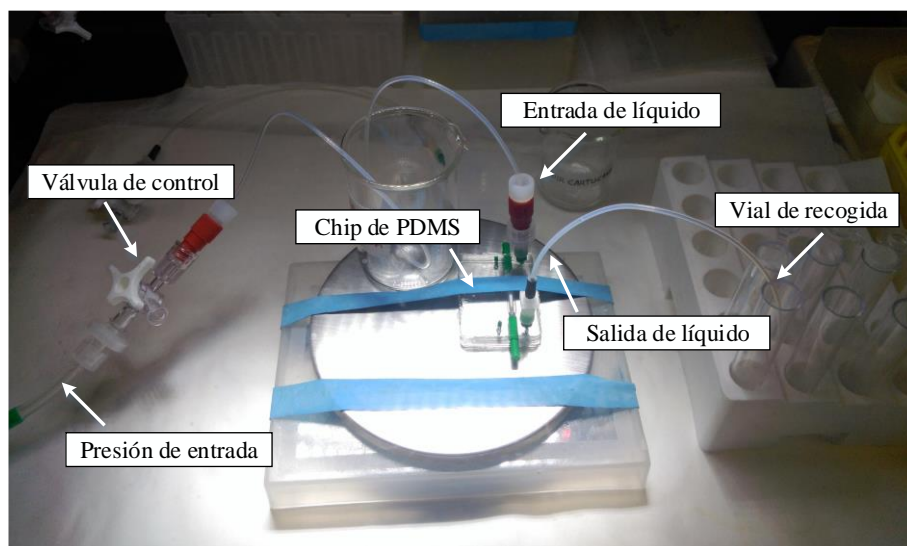


Figura 5.1 Montaje experimental en el que el chip con la cámara de retención está en parte central de la imagen.

Debido a la necesidad de utilizar componentes radioactivos, estas pruebas se realizaron en las instalaciones de CNA (Centro Nacional de Aceleradores de España, Sevilla, España). Los iones de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se generan en el ciclotrón de 18 MeV (Cyclone 18/9, IBA Bélgica). Con el fin de evitar las impurezas de otros radionúclidos producidos durante el bombardeo, se realiza un segundo enjuague del target del ciclotrón para asegurar que toda la radiactividad se debe al $[^{18}\text{F}]$ fluoruro. Una alícuota de la solución se diluye con agua desionizada hasta alcanzar una concentración final de $0,5 \text{ mCi} / \text{mL}$. Todas las pruebas se realizan detrás de un blindaje de vidrio plomado y se emplearon tubos de Tygon y aire comprimido para bombear los líquidos al interior de la cámara. La figura 5.1 muestra el montaje experimental.

Para realizar cada prueba experimental, se bombea un determinado volumen V_{i1} de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro procedente del ciclotrón y diluido en agua a través de la entrada de la cámara de retención, a una presión p_i (consultar la figura 5.2). Muchos autores recomiendan la activación previa de la resina con K_2CO_3 , los experimentos han demostrado que dicha activación previa no es necesaria y que la resina es capaz de funcionar adecuadamente sin este paso previo. Se debe medir la radiactividad inicial de este volumen A_i . En estas pruebas, los líquidos se introducen manualmente en el tubo de carga y luego se bombean

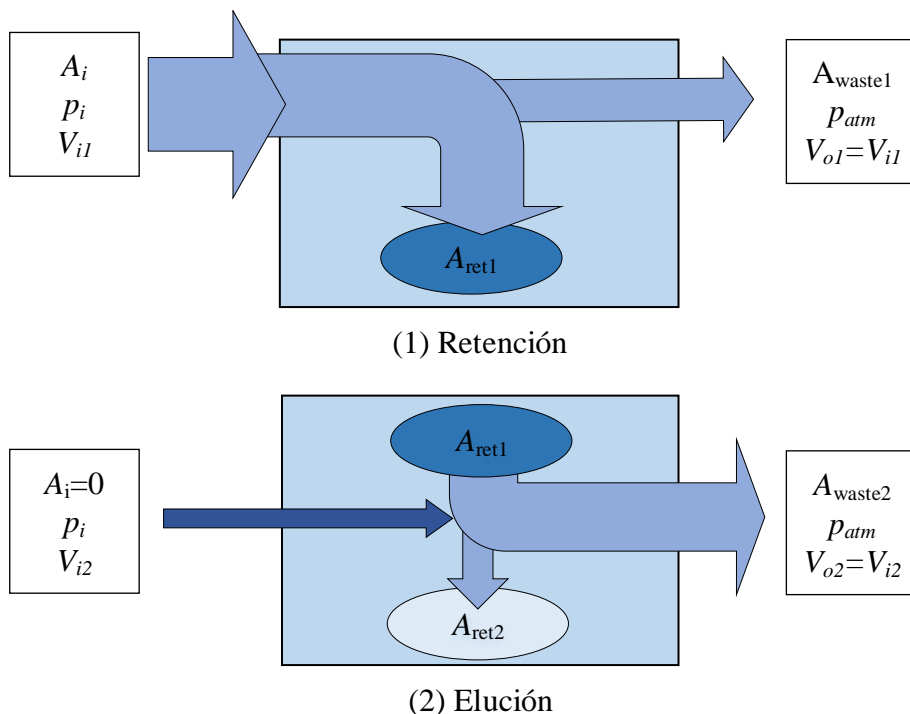


Figura 5.2 Procesos de medición de los porcentajes de retención y de elución. En la fase 1 se introduce una radiactividad inicial A_i y se retiene una radiactividad A_{ret1} . En la fase 2, no se introduce ninguna radiactividad y se eluye una radiactividad A_{waste2} . De estas magnitudes se deducen los porcentajes de retención y elución.

en la cámara de retención con aire comprimido. Esta es la razón principal por la que se deben utilizar radiactividades bajas en este proceso.

En la fase de retención (fase 1 en la figura 5.2), el volumen de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro se retiene en la cámara de retención con radiactividades A_{ret1} , mientras que en el agua residual la radiactividad es A_{waste1} . La radiactividad en los tubos de salida también se mide y se agrega a A_{waste1} . Una vez que se miden todas estas radiactividades, la tasa de retención se calcula como la relación entre la radiactividad restante en la cámara de purificación y A_i . La radiactividad que queda en los tubos de entrada suele ser muy pequeña, pero también se mide y se deduce de A_i para obtener un resultado más preciso.

En la fase de elución (fase 2 en la figura 5.2), el líquido de entrada con el volumen V_{i2} no tiene radiactividad, y nuevamente se miden las radiactividades en los volúmenes residuales, los tubos de salida y la cámara de retención. La tasa de elución se calcula como la relación entre la radiactividad eluida y la radiactividad que se mantuvo en la fase de retención. A_{ret2} es la radiactividad que no se puede eluir e idealmente debería ser lo más pequeña posible.

Como se mencionó anteriormente, el objetivo de los experimentos es determinar las tasas de retención y elución. Esto se hace para diferentes condiciones de volumen de

líquido, presión de impulsión, velocidad de flujo y número de usos. En las pruebas, la radiactividad inicial se mantiene a valores seguros pero representativos de alrededor de 500 μCi . El eluyente para la mayoría de los experimentos fue una solución de K_2CO_3 .

Un primer experimento intenta determinar si la captura de iones de $[^{18}\text{F}]$ fluoruro por interacción química con el propio PDMS puede representar un problema en el chip final. En este caso, no se incluyó resina en la cámara y se hizo pasar $[^{18}\text{F}]$ fluoruro por la misma. Diferentes mediciones indican que la radiactividad que permanece en el chip es siempre inferior al 5 % de la radiactividad inicial introducida, lo que se considera aceptable, teniendo en cuenta que esto se puede atribuir a pequeños volúmenes de agua radioactiva que pueden permanecer en el interior de las cámaras o los canales. Más adelante, se verá que con la inclusión de la resina, el $[^{18}\text{F}]$ fluoruro que permanece en el chip es aún menor.

Efecto de la presión y la velocidad de flujo

En principio podría parecer deseable utilizar una presión de impulsión p_i lo más alta posible para reducir los tiempos de reacción totales. Sin embargo, el proceso de fabricación limita la presión de funcionamiento máxima hasta aquel valor que pudiese romper la unión PDMS-PDMS que existe entre la membrana y el chip. Diferentes pruebas mostraron que esta presión de rotura es de alrededor de 1 bar. El volumen inicial V_{i1} elegido para estos experimentos fue de 0.1 mL. La elución se realizó con un volumen V_{i2} de 20 μl de solución de K_2CO_3 a una concentración de 50 mg/mL.

Tabla 5.1 Resultados de las diferentes presiones de entrada.

Presión (mbar)	Retención (%)	Elución (%)
200	98	77
200	100	95
200	100	100
500	100	88
500	100	98
500	100	98
700	100	99
700	100	93
700	100	86
900	100	51
900	100	57
900	100	91

La tabla 5.1 muestra las tasas de retención y elución para varios valores de presión de entrada. La tasa de retención resultante es muy cercana al 100 % lo que significa que no se encontró radiactividad en el agua residual o en los tubos ubicados a la salida del chip. Cuando los valores de presión están próximos a los 900 mbar, las tasas de elución disminuyen significativamente porque se produjeron roturas en la membrana del chip y no se recuperó el producto. En vista de estos resultados obtenidos, se eligieron valores para la presión de impulsión cercanos a 500 mbar, proporcionándose un caudal de aproximadamente 180 μL / min.

Efecto del volumen inicial

En estas pruebas, se usa la misma cantidad de [^{18}F]fluoruro que en la prueba anterior (500 μCi), diluido en diferentes volúmenes de agua V_{i1} , escogiéndose valores de 0,1 mL y 2 mL, siendo este último el volumen máximo generado por el ciclotrón. La elución se realiza de forma idéntica a la prueba anterior. Como se muestra en la tabla 5.2, no se encuentran diferencias significativas para los cambios en el volumen en la retención. En cuanto a la elución, parece que mayores cantidades de eluyente producen mayor variabilidad en los resultados obtenidos, posiblemente debido a que favorece la aparición de volúmenes muertos dentro del chip o en los tubos. Después de realizar esta prueba, se eligió un volumen de muestra de 0,1 mL, que se consideró adecuado para el resto de los experimentos.

Tabla 5.2 Resultados para diferentes volúmenes de muestra.

Volumen (mL)	Retención (%)	Elución (%)
0,1	100	88
0,1	100	98
0,1	100	98
2	98	89
2	98	95
2	98	79

Pruebas de repetibilidad

Pese a que el chip final está destinado a ser desechable, es interesante saber cómo funciona una cámara de retención en ciclos repetitivos de retención y elución. Para estas pruebas, se realizaron fases sucesivas de retención y elución sobre la misma cámara de retención. Los resultados en la figura 5.3 muestran que a medida que se realizan más ciclos, la capacidad de retención de la cámara de retención disminuye (téngase en cuenta que la figura muestra las tasas de retención y elución tal como se definen en la figura 5.2). Esto puede ocurrir como consecuencia de que el K_2CO_3 utilizado para la elución produce efectos de obstrucción en los canales de PDMS. Podría evitarse limpiando la cámara con agua antes de la siguiente carga; por lo tanto, las sales residuales serían eliminadas, permitiendo que el [^{18}F]fluoruro sea retenido por la resina QMA.

La repetibilidad entre diferentes cámaras de retención es también un parámetro fundamental. Para la realización de estas pruebas, se usó una presión de impulsión de 500 mbar, un volumen de [^{18}F]fluoruro de 0.1 mL para la carga y un volumen para la elución V_{i2} de 20 μL de K_2CO_3 a una concentración de 50 mg/mL. La tabla 5.3 muestra los resultados obtenidos en estas pruebas. Como puede verse, se logran buenas tasas de retención, pero los resultados de elución no son lo suficientemente buenos. Esto se debe a que el volumen utilizado para la elución no era el suficiente.

Se realizó un nuevo conjunto de pruebas utilizando una elución con 15 μl de K_2CO_3 y 15 μl de K 2.2.2. El K 2.2.2 es un compuesto que se emplea en un paso posterior de la síntesis de [^{18}F]FDG. La inclusión de K 2.2.2 en la elución, no solo no es negativa para el proceso, sino que presenta dos ventajas. En primer lugar, el volumen total de líquido se incrementa en la elución, lo que mejora los resultados aumentando significativamente el

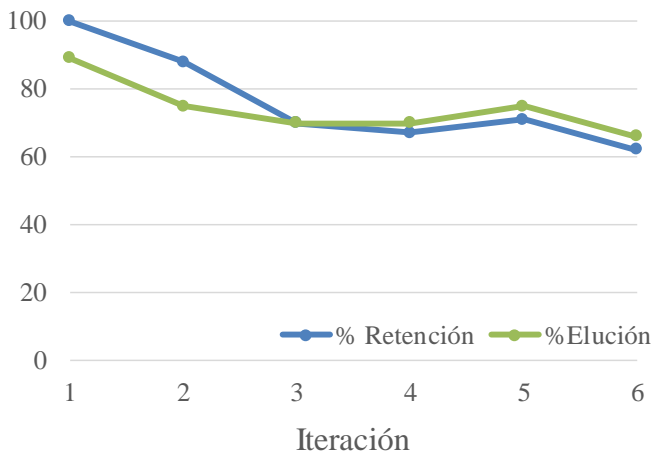


Figura 5.3 Cambios en los porcentajes de retención y elución debidos a la repetición de pruebas sobre un mismo dispositivo.

Tabla 5.3 Pruebas de repetibilidad. La elución se realiza con 20 μL de K_2CO_3 .

Prueba #	Retención (%)	Elución (%)
1	100	88
2	100	88
3	100	89
4	98	81
5	98	90

porcentaje de elución. En segundo lugar, al introducir los dos reactivos al mismo tiempo es posible eliminar una de las entradas de reactivos del chip final, ahorrando un paso en el proceso de síntesis. La tabla 5.4 muestra los resultados obtenidos en estas pruebas.

Tabla 5.4 Pruebas de repetibilidad. Elución con 15 μL de K_2CO_3 y 15 μL de K 2.2.2.

Prueba #	Retención (%)	Elución (%)
1	100	100
2	100	99
3	100	100
4	98	94
5	100	100

Prueba de radiactividad máxima

Estas pruebas se han realizado con radiactividades próximas a los 500 μCi , lo cual ha servido para proporcionar resultados apropiados del correcto funcionamiento de la cámara de retención. Sin embargo, para verificar el funcionamiento de estas cámaras se decidió probar niveles de radiactividad mucho más elevados. Estas pruebas debían realizarse dentro de celdas calientes por razones de seguridad. La figura 5.5 muestra los resultados obtenidos. Indican que tanto las tasas de retención como las de elución son considerablemente más bajas para radiactividades muy altas debido a que la cantidad de resina introducida no es suficiente para retener tanta actividad, aun así el funcionamiento de la cámara es el esperado.

Tabla 5.5 Resultados para diferentes radiactividades iniciales.

Prueba #	Radiactividad (mCi)	Retención (%)	Elución (%)
1	1316	67	78
2	1450	79	62
3	1740	81	74
4	1920	58	69
5	1960	53	67

Los datos en la 5.5 muestran que la radiactividad real retenida y eluida alcanza los 1000 mCi, valor más que suficiente para las dosis de PET inyectadas en humanos.

5.1.2 Cámara de purificación

Para la cámara de purificación se realizan pruebas para averiguar la cantidad mínima de resina que es necesario insertar para una correcta purificación del producto, eliminando las impurezas generadas. Para ello, se emplearán dos resinas que retendrán las impurezas catiónicas y aniónicas.

Se ha decidido prescindir del uso de la resina tC18, puesto que recientes pruebas realizadas en el módulo de síntesis del CNA demuestran que gran parte del radiofármaco generado no consigue eluirse completamente de esta resina, perdiéndose eficiencia en la generación del producto. Además, se puede llegar a grados de pureza muy elevados con el uso únicamente de SCX y la alúmina.

Las pruebas realizadas permiten confirmar el correcto funcionamiento de esta parte del sistema que se integra en el interior del chip microfluídico.

Prueba con la resina SCX

Se realizaron pruebas hasta determinar la cantidad de resina suficiente para retener las impurezas catiónicas de la síntesis del radiofármaco. La determinación fue indirecta, a través del test de retención del K 2.2.2 (determinación de aminopolíéter en cromatografía de capa fina).

La prueba consiste en hacer pasar una solución de K 2.2.2 a través de una cámara en la que se introduce la resina SCX y recuperar el eluido en un vial. La solución se compone de 15 μL de K 2.2.2 diluidos en 1 mL agua. Para realizar la cámara de purificación se

fabrica un hueco en PDMS con forma cilíndrica similar a la cámara de purificación del dispositivo final. Se coloca la resina entre dos filtros y se cierra todo el conjunto con conectores microfluídicos.

Seguidamente se pone una muestra del eluido sobre la placa de yodoplatinato y esta debe ser similar a la muestra de agua previamente depositada sobre la placa y no a la muestra control que contiene K 2.2.2 La ausencia de color negro determina que no contiene K 2.2.2 y que la resina ha realizado su función.

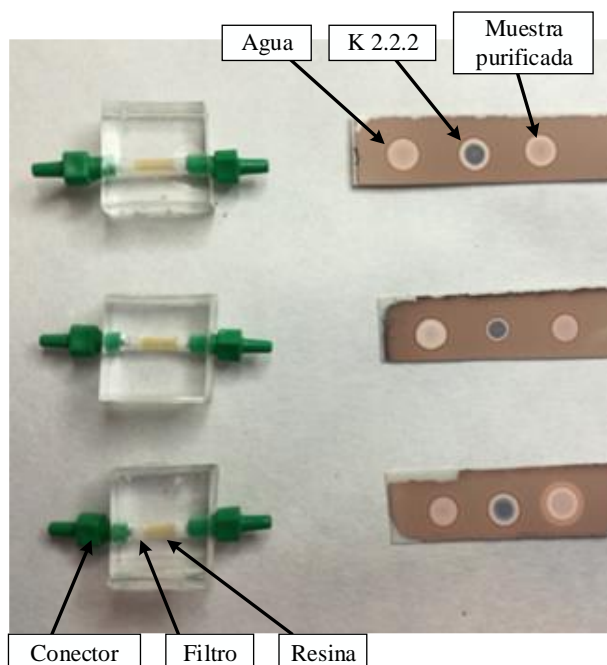


Figura 5.4 Resultado de la prueba de purificación de la cámara con 5 mg de resina SCX. La imagen muestra los dispositivos empleados y las placas de yodoplatinato.

Se realizan pruebas con cámaras para distintas cantidades de resina: 10 mg, 8 mg, 7 mg, 5 mg y 2,5 mg. Tras las pruebas realizadas se observó que 2,5 mg es poca cantidad de resina para retener el K 2.2.2 introducido. A partir de 5 mg se consigue retener el producto y se considera que la purificación es adecuada.

Se repitió la prueba hasta tres veces, en 3 cámaras de purificación distintas, todos de 5 mg, para comprobar la repetitividad. Como se observa en la figura 5.4 todos funcionaron.

Prueba con la resina de Alúmina

Como ya se ha dicho la resina de Alúmina permite retener las impurezas aniónicas, en este caso el fluoruro libre que no se une a la molécula de MITP durante la reacción. Para comprobar el funcionamiento de esta cámara se realiza un dispositivo en el que se introduce un volumen de resina que se considera suficiente para retener la cantidad de flúor introducida.

La prueba consistirá en realizar un bombardeo en el ciclotrón para conseguir una cantidad apreciable de [^{18}F]fluoruro que se medirá. Posteriormente, se pasará por la cámara con alúmina, que atraparé el flúor y se volverá a medir la actividad del volumen de agua de la salida de la cámara, que idealmente debe ser cero.

Por otro lado, para evitar posibles errores de medida producidos por impurezas catiónicas, se decide incluir en la cámara la resina SCX. Además, de esta forma se simulará de manera más fiable el funcionamiento del dispositivo final.

Por lo tanto, en un dispositivo realizado en PDMS con un hueco con forma cilíndrica se introducen 40 mg de alúmina y 5 mg de SCX. A ambos lados de la resina se colocan filtros que impiden posibles fugas del material permitiendo el paso del líquido. El conjunto se cierra con conectores microfluídicos. La actividad del ciclotrón se recoge en un vial cónico donde se realiza la primera medición. Seguidamente, se impulsa al reactor donde se vuelve a medir. A la salida del reactor se coloca la cámara de purificación con las resinas que retienen el flúor libre y cuyo producto llega al vial de recogida, donde se mide por última vez.

La tabla 5.6 muestra los resultados obtenidos en las pruebas realizadas. Se efectúan tres pruebas en las que se hace pasar sobre el mismo dispositivo las cantidades de [^{18}F]fluoruro indicadas, por lo que se deduce que la resina ha sido capaz de retener más de 330 mCi de [^{18}F]fluoruro, que se consideran cantidades de fluoruro en exceso con respecto a la purificación que será necesaria para el dispositivo final. Se observa además que los valores de radiactividad medidos en el vial de recogida son mínimos, teniendo además en cuenta que existe una radiactividad de fondo en el interior de la celda de dispensación que está siendo recogida por el detector. Debido a estos pequeños errores de medida no se ha considerado necesario calcular el valor de radiación teniendo en cuenta el decaimiento del reactivo, pero hay que tener en cuenta que entre las pruebas transcurre un tiempo de bombardeo en el ciclotrón.

Con estos resultados se confirma que las cantidades de resina empleadas son suficientes para poder llevar a cabo la correcta purificación del radiofármaco.

Tabla 5.6 Resultado de la prueba de funcionamiento de la cámara de purificación rellena con alúmina, a la que se le incorpora SCX.

	T. Bombardeo(min.)	V. Cónico(mCi)	Reactor(mCi)	V. Recogida(mCi)
N1	5	80	88	1
N2	5	100	105	0,9
N3	10	150	151	0,5

5.2 Módulo de reacción

En esta sección se enumeran los resultados obtenidos en las pruebas relacionadas con el módulo de reacción del sistema. Se explica los ajustes necesarios llevado a cabo para conseguir el calentamiento y la desgasificación de la cámara de reacción y el funcionamiento de la membrana porosa a los gases empleada. También se explican las pruebas realizadas en

relación a cómo afecta en el proceso la posible interacción química del material empleado para la realización de los chips microfluídicos (PDMS) con el [^{18}F]fluoruro utilizado durante la síntesis.

5.2.1 Calentamiento y desgasificación. Membrana porosa a los gases

Para evaluar el funcionamiento del reactor se realizaron pruebas para comprobar que es capaz de secar los líquidos que se introducían en su interior y así validar el proceso de reacción. Para ello se realizaron pruebas con el dispositivo descrito en el apartado 3.3 para comprobar que el calentamiento y la desgasificación de la cámara de reacción funcionaba correctamente.

El chip empleado para realizar las pruebas es un reactor con una capacidad de 30 μL que está conectado a dos canales que permiten la entrada y la salida de líquidos. También se han realizado pruebas con otras capacidades para la cámara y se observa que no influye sustancialmente en el funcionamiento del reactor. Sí hay que destacar que una mayor altura del reactor puede hacer que la temperatura del calentador no alcance de igual manera la superficie de la cámara, pudiendo ralentizar la reacción. Esto se puede solventar fácilmente aumentando la temperatura del calentador.

Para cerrar el reactor se utiliza una membrana porosa de PDMS de unas 50 μm de espesor. Se ha observado que el grosor de la membrana es crítico a la hora de poder desgasificar la cámara, el problema de trabajar con espesores tan reducidos es que aumenta la fragilidad del reactor y es necesario asegurar su integridad, especialmente cuando se utilizan sustancias radioactivas. Las pruebas realizadas con espesores superiores ralentizaban el tiempo de reacción, pudiendo ocurrir que se generen más gases en el interior de la cámara que los que el extractor conectado a la bomba de vacío es capaz de absorber, con lo cual la membrana comienza a hincharse, pudiéndose provocar su rotura. Por otro lado, espesores menores podían facilitar también la rotura al obtenerse membranas demasiado frágiles.

Otra de las cualidades que se ha observado durante la realización de las pruebas es que favorecer que la membrana se hinche levemente también permite evitar roturas. Por ello, se cambió el diseño del calentador para que hubiese una separación de al menos 1 mm entre la base del calentador y la membrana en reposo. Gracias a esta separación, cuando comience a hacerse el vacío, la membrana se estirará hasta tocar el calentador dejando más espacio en la cámara para realizar la reacción. Se ha demostrado que este margen de separación es imprescindible para el correcto funcionamiento.

El volumen empleado con respecto a la capacidad de la cámara también es crítico. No es aconsejable que el volumen de reactivo supere el 60 % del volumen de la cámara de reacción, ya que es necesario dejar espacio para los gases generados. Por esto, en el caso del reactor de 30 μL se decide realizar las pruebas con un volumen de 15 μL de agua.

Una vez ajustados empíricamente todos los parámetros mencionados se realizó una prueba para confirmar la repetitividad del proceso y que una única cámara era capaz de realizar una sucesión de reacciones, con lo que se aseguraría el funcionamiento del dispositivo. La tabla 5.7 muestra siete reacciones realizadas con un único reactor hasta conseguir secar el líquido en cada una de ellas, sin que se apreciara ninguna rotura.

Los tiempos de reacción son significativamente constantes en todas las pruebas. Estos tiempos pueden variar por diversos factores, como por ejemplo el volumen del líquido a

Tabla 5.7 Tiempos de reacción de las pruebas realizadas en un único dispositivo.

Prueba	T. (min.)
N1	6,5
N2	6,33
N3	6
N4	6,33
N5	6,5
N6	6,5
N7	6,5
Promedio	6,38

evaporar o el tipo de reactivo. En este caso las pruebas se realizaron con agua, pero otras sustancias que se emplean en la síntesis de radiofármacos como por ejemplo el acetonitrilo son mucho más volátiles y tienen menos dificultad para atravesar la membrana de PDMS, siendo incluso innecesario emplear el vacío para desgasificar la cámara.

Con estas pruebas se confirma el correcto funcionamiento del reactor y permitieron confirmar que el dispositivo empleado tenía la capacidad de realizar adecuadamente la reacción necesaria para elaborar un radiofármaco.

5.2.2 Absorción de [^{18}F]fluoruro en PDMS

Como se ha comentado, la utilización de PDMS para la fabricación de dispositivos microfluídicos de generación de radiofármacos supone una gran ventaja por su sencillo proceso de fabricación, su bajo coste y su biocompatibilidad. Sin embargo, varios autores indican que existe una posible interacción química entre el [^{18}F]fluoruro empleado en la síntesis y el PDMS, reduciéndose la efectividad del producto. Si se confirmase esta interacción sería necesario evaluar la conveniencia del uso de este tipo de material.

El objetivo de estas pruebas es evaluar la retención y elución de fluoruro en una cámara de reacción de PDMS (sin ningún tipo de película de protección) cuando está bajo condiciones de calentamiento y vacío. Para esta prueba, se utilizaron diez cámaras de reacción de PDMS de 30 μL para evaluar los posibles fenómenos de absorción de [^{18}F]fluoruro. Se probaron con actividades crecientes de [^{18}F]fluoruro.

Se comienza con las soluciones radioactivas más bajas de [^{18}F]fluoruro cuyas pruebas se realizan manualmente. Las concentraciones radiactivas tienen diferentes valores, debido a la dificultad para ajustar la concentración para volúmenes de 30 μL . Para las soluciones radioactivas más bajas, solo se pasa un enjuague de 100 a 200 μL de [^{18}O] agua a través del target del ciclotrón previamente bombardeado para transportar [^{18}F]fluoruro a un vial. Para actividades más altas, se utilizó un bombardeo completo en cada experimento. El producto del target se envió a un cartucho de extracción en fase sólida de QMA en una celda de dispensación separada, y se eluyó con K_2CO_3 con 6 mg/mL de solución acuosa para preconcentrar el [^{18}F]fluoruro.

Se utilizan actividades que oscilan entre los 37 MBq y 22,2 GBq de [^{18}F]fluoruro. No se emplean actividades más altas por seguridad. Estos valores de radioactividad probados se consideran suficientes y corresponden a dosis para dos o tres pacientes. Las soluciones

radiactivas de [^{18}F]fluoruro en solución acuosa de K_2CO_3 y acetonitrilo 1:1 se inyectan manualmente en los reactores, detrás de una barrera plomada. Seguidamente se calientan los 30 μL de solución de [^{18}F]fluoruro (15 μL de KF + 15 μL de acetonitrilo) hasta la evaporación completa para simular la destilación azeotrópica y la sustitución nucleófila. La temperatura empleada oscila entre 100-140 $^{\circ}\text{C}$, dependiendo de la prueba. Se emplea la bomba de vacío para la desgasificación del reactor y la reacción dura un promedio de 10 minutos. El [^{18}F]fluoruro se eluye con agua para inyección y las cámaras del reactor y los microcanales se secan con aire comprimido (100 mbar). La radioactividad de los chips se mide en un calibrador de dosis Comecer IBC después del llenado, la evaporación y la elución con agua. Las soluciones eluidas también se midieron en el activímetro.

Tabla 5.8 Radioactividades medidas en MBq de las pruebas realizadas con [^{18}F]fluoruro en cada uno de los chips microfluídicos .

#	Carga	Evaporación	Agua eluida	Chip eluido	2ª Elución	Residual (%)
1	8.62	8.39	7.04	0.10	-	1.16
2	12.58	11.80	10.86	0.21	-	1.66
3	28.12	27.98	24.07	1.09	0.3	1.06
4	51.80	48.84	43.35	1.81	0.5	0.96
5	66.60	63.15	54.21	1.91	0.5	0.75
6	240.05	231.77	220.27	0.78	-	0.32
7	802.10	774.26	716.49	19.24	2.1	0.26
8	925.30	856.62	756.74	7.50	-	0.81
9	1257.01	1195.85	1017.59	7.48	-	0.59
10	2544.80	2526.67	2292.26	7.88	-	0.30

Se observó que los porcentajes residuales de [^{18}F]fluoruro que pueden permanecer en los chips se deben principalmente a "volúmenes muertos" que permanecen en las esquinas del dispositivo y que cuesta eluir de su interior. Por ello, en algunas pruebas, se decidió realizar una segunda etapa de elución que eliminaba la mayor parte del [^{18}F]fluoruro restante. Se impulsó 1 mL de agua a través del circuito, de tal manera que el [^{18}F]fluoruro se eluye casi por completo. Si la causa del problema fuese la interacción entre [^{18}F]fluoruro y PDMS, sería de esperar una mayor radioactividad residual de [^{18}F]fluoruro en el PDMS y que no fuera posible eliminar con lavados de agua.

Los trabajos de Elizarov [29] y Zacheo [113] indican la posibilidad de que el [^{18}F]fluoruro interactúe con el PDMS. Según las pruebas realizadas, los calentamientos de entre 100-130 $^{\circ}\text{C}$ durante 8-15 minutos (tiempo aproximado para realizar la síntesis) no causan fenómenos de absorción de [^{18}F]fluoruro observables o de pérdida de radioactividad en la evaporación. Nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Zhang [114], en cuyo dispositivo de microfluidos PDMS, la pérdida de radioactividad fue inferior al 5 % después de la etapa de secado.

La tabla 5.8 muestra los resultados obtenidos en las pruebas. En dicha tabla se indican la actividad en MBq de la carga inicial que se introduce en el chip y la que permanece en el reactor tras la evaporación. También se mide el agua irradiada obtenida con la elución y la radioactividad en el chip tras la elución. En caso de que la radioactividad que queda

en el chip se considere elevada se procede a una segunda elución tras la cual se vuelve a medir la actividad en el chip. Por último, se indica el porcentaje de actividad residual que ha permanecido en el chip tras el proceso.

En principio, no parece que el recubrimiento del PDMS con algún polímero sea necesario para la síntesis de productos radiofarmacéuticos fluorados. Como concluye Zhou [115], las propiedades de PDMS mejoran con las películas de cobertura aunque, para radiofármacos se pueden usar chips de PDMS sin tratamiento adicional. La posibilidad de recubrir PDMS fue revisada por Makamba [68]. Mientras que los recubrimientos pueden beneficiar los sistemas de usos múltiples, los costos y la complejidad de fabricación aumentan [86].

Los solventes comunes para la fluoración nucleofílica son solventes apróticos (acetonitrilo, dimetilsulfóxido, dimetilformamida). La compatibilidad con PDMS de estos disolventes fue estudiada por Lee [63] en un total de 38 disolventes, comparando la hinchazón y la solubilidad. Concluyen que el PDMS no se ve afectado por ellos.

Para evaluar los efectos de absorción no deseados en diferentes materiales, Zacheo [113]) midió la interacción del [^{18}F]fluoruro radioactivo dentro del microcanal a través de autorradiografía. Concluye que los materiales poliméricos, como las capas de SU-8 y Teflon, se ven menos afectados por la radioactividad que el PDMS, el vidrio y los sustratos de silicio. Probaron esos materiales en un tratamiento de dosis alta, aproximadamente 20 GBq de [^{18}F]fluoruro y durante 14 h. En nuestras pruebas, estudiamos la retención y elución de actividades más pequeñas y durante los tiempos habituales de síntesis, para la producción de dosis para dos o tres pacientes, en centros PET sin una gran infraestructura en comparación con la producción industrial de radiofármacos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, no se encuentra una absorción considerable del [^{18}F] en PDMS cuando este material se encuentra bajo condiciones de calentamiento y vacío comúnmente utilizadas en la preconcentración con fluoruro, la sustitución nucleofílica, la evaporación del disolvente, la hidrólisis y la purificación con [^{18}F]fluoruro. Durante el trascurso de las pruebas el [^{18}F]fluoruro se retuvo en el reactor después de la evaporación, pero se eluyó casi completamente con agua para inyección de su interior. Para actividades más altas, se midió menos del 0.3 % de la radioactividad en todo el chip, incluidos el reactor y los microcanales, después del calentamiento y la evaporación y todo el [^{18}F]fluoruro se recuperó en la elución final. Varios autores han demostrado que el recubrimiento con PDMS mejora las características de este material, con respecto a la radiólisis y la quimisorción, pero para las condiciones habituales de la radiosíntesis, la interacción entre [^{18}F]fluoruro y PDMS no parece ser un problema.

5.3 Control del sistema en LabView

En esta sección se presentan las pruebas realizadas con el programa de control del sistema completo. Uno de los motivos principales de emplear el modo automático como comprobación es que durante su ejecución se llevan a cabo la mayor parte de las rutinas del proceso, por lo que supone una excelente forma de evaluar el estado del sistema. Se realizan tres pruebas en las que se utiliza el programa ModoAutomático.vi, accediendo a través del botón situado en el panel frontal, para configurar este modo y comprobar

el funcionamiento. Tras cada prueba se muestra el comportamiento del panel frontal al emplear las secuencias anteriores.

5.3.1 Secuencia de un estado, con una condición de cambio y sin Fluigent

Se trata de un ejemplo sencillo para comprobar el funcionamiento del programa de configuración con un único set point y una única condición de cambio. En esta prueba aún no se hace uso del sistema Fluigent. Como puede verse en la figura 5.5 (a), el set point que se ha activado es el de la apertura de todos los solenoides y la condición de cambio elegida es CCduración (seg) a la que se le da un valor de 10. Por lo tanto esta configuración procederá a abrir todos los solenoides durante 10 segundos. La figura 5.5 (b) muestra el archivo .txt que se utiliza para la configuración que se ha programado.

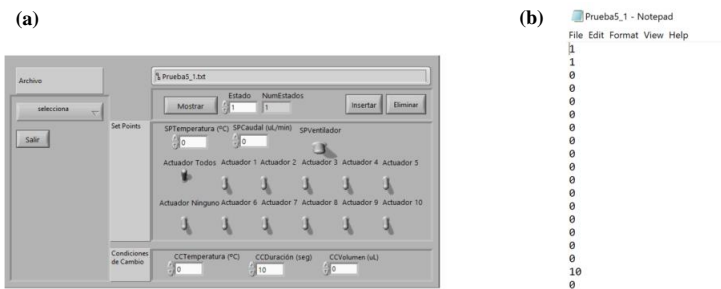


Figura 5.5 (a) Pantalla de configuración para una secuencia con un estado y una condición de cambio de tiempo. (b) Archivo de configuración generado.

5.3.2 Resultado de la primera prueba

La figura 5.6 muestra el resultado en el panel frontal de la configuración de la primera secuencia en la que todos los indicadores de solenoides están apagados, lo que indica que las válvulas están abiertas. El indicador inferior T(seg) muestra el instante en que se realizó la captura de pantalla.

5.3.3 Secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent

En este ejemplo se comprueba el funcionamiento del programa de configuración con dos set points y dos condiciones de cambio. En esta prueba tampoco se hace uso del sistema Fluigent. Como puede verse en la figura 5.7 (a), se ha configurado para mantener el solenoide 1 abierto durante 10 segundos. La figura 5.7 (b) muestra la siguiente configuración que consiste en cerrar el solenoide hasta que se alcancen los 40 °C de temperatura en el calentador. La figura 5.7 (c) muestra el archivo .txt que se utiliza para la configuración que se ha programado.

5.3.4 Resultado de la segunda prueba

La figura 5.8 (a) muestra el resultado en el panel frontal de la configuración de la primera secuencia en la que el indicador del solenoide 1 esta apagado, por lo que el solenoide está

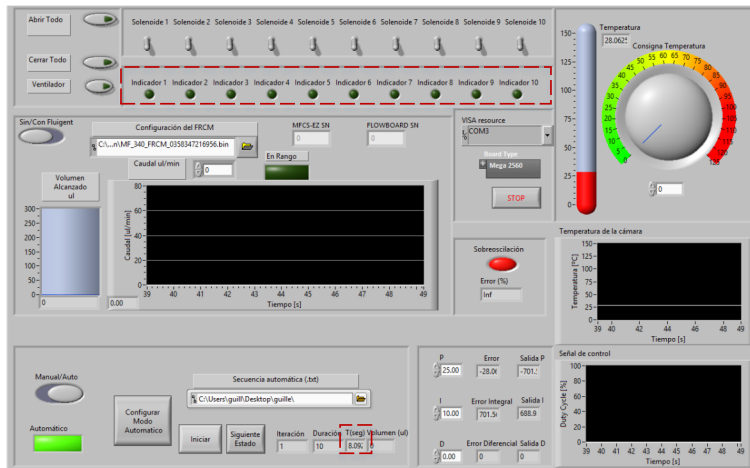


Figura 5.6 Resultado para la secuencia de un estado, con una condición de cambio y sin Fluigent.

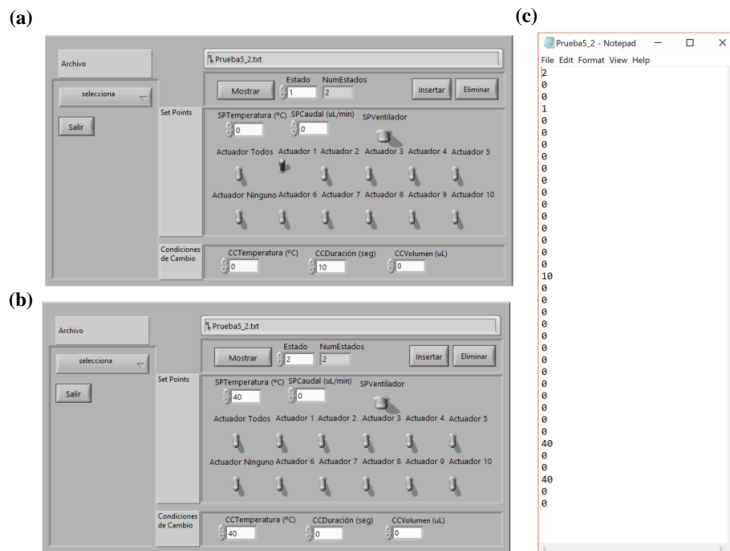


Figura 5.7 (a) Pantalla de configuración para una secuencia con el primer estado y una condición de cambio de tiempo. (b) Pantalla de configuración para el segundo estado y una condición de cambio de temperatura. (c) Archivo de configuración generado.

abierto. En la figura 5.8 (b) se muestra la segunda secuencia en la que el calentador está alcanzando la temperatura de 40 °C.

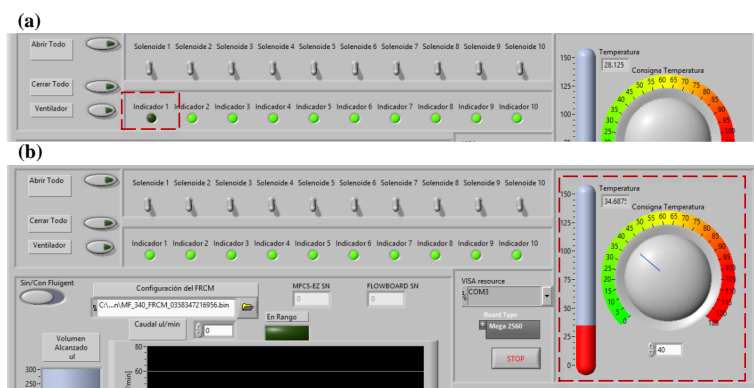


Figura 5.8 (a) Resultado del primer estado para la secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent. (b) Resultado del segundo estado para la secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent.

5.3.5 Secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent

En este ejemplo se comprueba el funcionamiento del programa de configuración con tres set points, tres condiciones de cambio y utiliza el sistema Fluigent. Como puede verse en la figura 5.9 (a), se ha configurado para introducir 20 μL de fluido por la entrada correspondiente al solenoide 2. La figura 5.9 (b) muestra la siguiente configuración que consiste en cerrar el solenoide 2 hasta que se alcancen los 50 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura en el calentador. La figura 5.9 (c) muestra el último estado que consiste en mantener los 50 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura en el calentador durante 15 segundos. La figura 5.9 (d) muestra el archivo .txt que se utiliza para la configuración que se ha programado.

5.3.6 Resultado de la tercera prueba

La figura 5.10 (a) muestra el resultado en el panel frontal de la configuración de la primera secuencia en la que el indicador del solenoide 2 está apagado, por lo que está abierto y se está impulsando un volumen de 20 μL por esa entrada. En la figura 5.10 (b) se muestra la segunda secuencia en la que el calentador está alcanzando la temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$, por otro lado se observa como se ha alcanzado el volumen que se deseaba impulsar en la secuencia anterior y el solenoide cerrado. Por último, en la figura 5.10 (c) se observa la tercera secuencia, en la que el calentador ha alcanzado la temperatura de 50 $^{\circ}\text{C}$ y la mantiene durante 15 segundos.

5.4 Sensor de radiación

En este apartado se describen las pruebas realizadas con el sensor de radiación SiPM para validar su funcionamiento. El objetivo es conseguir localizar el posicionamiento del reactivo en el interior del chip en cada momento de la síntesis. Esto supone aumentar la inteligencia del sistema y permite actuar sobre los distintos módulos de manera más

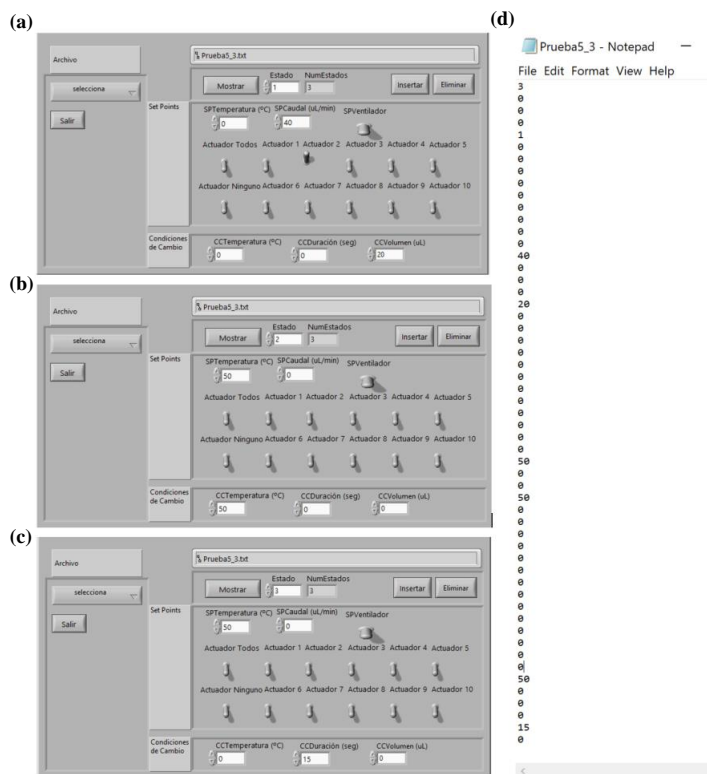


Figura 5.9 (a) Pantalla de configuración para el primer estado y una condición de cambio de volumen. (b) Pantalla de configuración para el segundo estado y una condición de cambio de temperatura. (c) Pantalla de configuración para una secuencia del tercer estado y una condición de cambio de tiempo. (d) Archivo de configuración generado.

eficiente. Por ejemplo, podemos conocer en qué instante el producto se encuentra en el reactor. En ese momento, se podría realizar el cierre de las válvulas y empezar a calentar el reactivo.

Todas estas pruebas se realizaron en ambientes controlados y bajo supervisión de personal cualificado en las instalaciones del CNA, debido a que es necesario utilizar productos radioactivos para llevarlas a cabo. Se decidió comenzar con pruebas sencillas de funcionamiento y terminar con las que más se asemejan al sistema final.

Detección de actividad de un vial en diferentes píxeles

Como primer acercamiento, se evaluó la capacidad del sensor para detectar la presencia de radiación en un vial de fluoruro que se ubica en diferentes posiciones [87]. Para ello, se capturaron las medidas realizadas por todos los sensores. Esta prueba fue crucial para determinar el rendimiento del sensor SiPM elegido, ya que fue posible determinar la radiación enfocada en sectores específicos del array. Para esta prueba experimental,

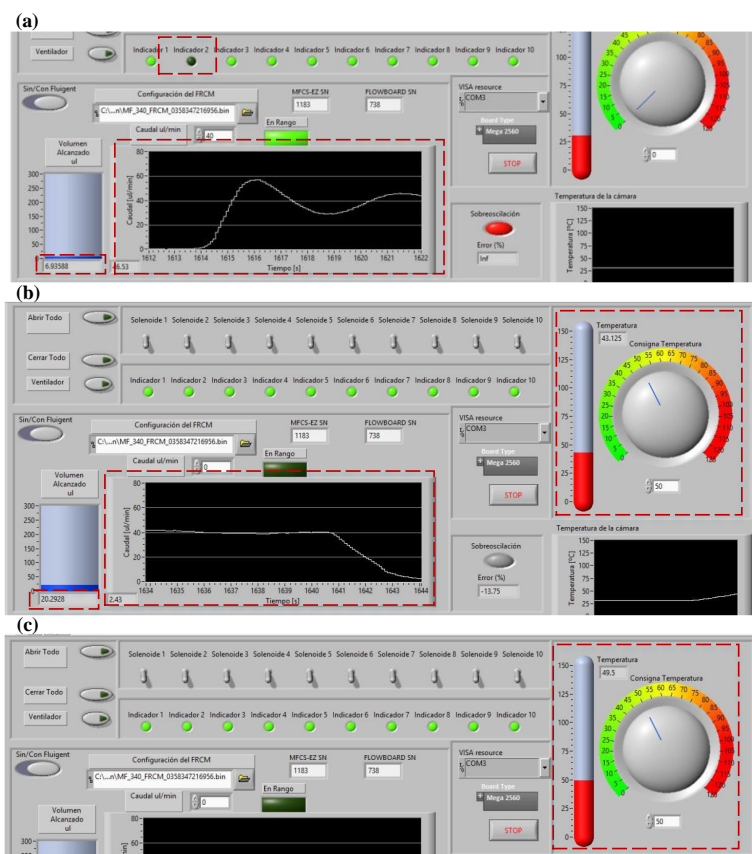


Figura 5.10 (a) Resultado del primer estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent. (b) Resultado del segundo estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent. (c) Resultado del tercer estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent.

se utiliza la multiplexación de las 16 señales para medir las cuentas por segundo (cps) generadas por el vial en un píxel específico durante un minuto.

El vial contiene [^{18}F]fluoruro en un volumen aproximado de 120 μL con una actividad de 40.4 MBq. Para esta prueba, se realizó el montaje experimental que se observa en la figura 5.11. El sensor se cubre con cinta adhesiva negra para evitar que la luz exterior afecte a la medición.

El resultado que se esperaba obtener en este experimento es alcanzar un mayor valor de radiación en aquellos píxeles que se encuentran más cercanos al vial, la colocación se asemeja a la de la figura 5.12.

A partir de la captura de datos del sensor y del sistema implementado, se realiza un código en MATLAB para procesar dicha información. Este código se presenta en el

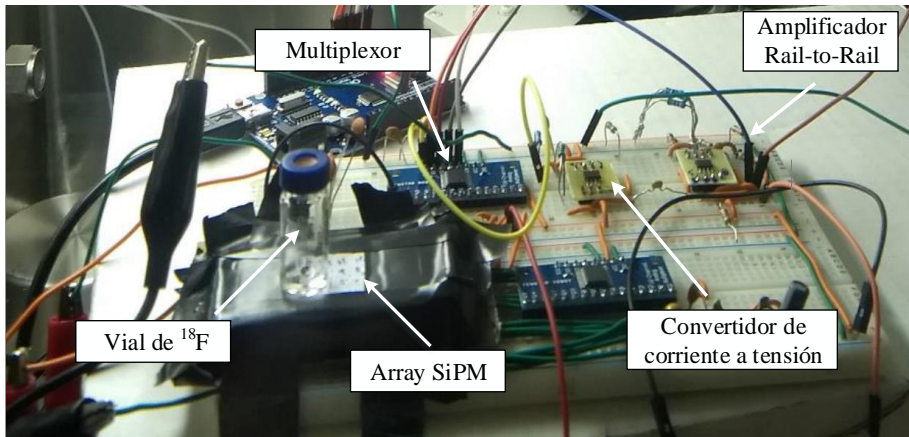


Figura 5.11 Montaje experimental para evaluar el funcionamiento del sensor SiPM.

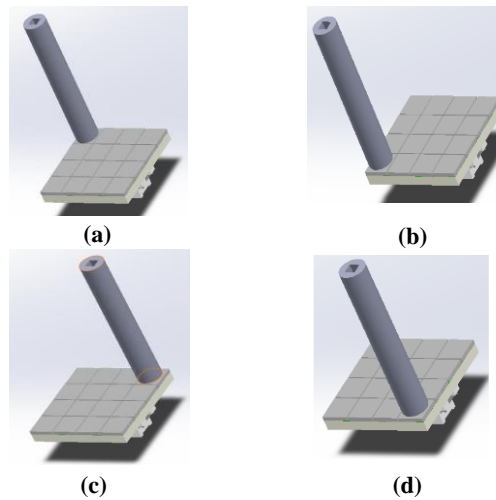


Figura 5.12 Representación de la colocación del vial con fluoruro en cada una de las esquinas del sensor SiPM: (a) píxel 0, (b) píxel 3, (c) píxel 12 y (d) píxel 15.

Apéndice D. En la figura 5.13 se puede observar el mapa de calor producido por el vial cuando se coloca en cada una de las cuatro esquinas del sensor. Viendo las cps obtenidas por cada sensor se diferencian las posiciones del vial según lo previsto. Se pueden observar variaciones en estos valores para cada esquina debido a que el vial se coloca manualmente sobre el sensor y a que la cinta que lo cubre no era completamente plana. Sin embargo, esta prueba permitió obtener importante información de la sensibilidad del sensor.

Por lo tanto, si la concentración del líquido radioactivo se establece en una zona cercana al sensor, se obtiene que el píxel que se encuentra justo debajo del vial tiene un mayor número de cuentas por segundo que aquellos que están alrededor. Las imágenes en la

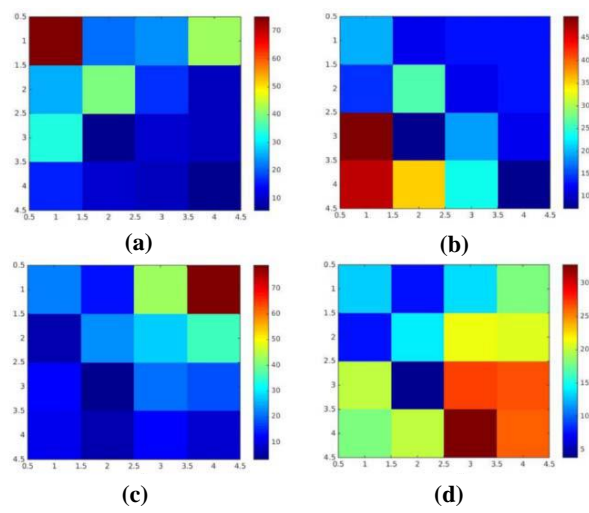


Figura 5.13 Mapas de calor de las distintas mediciones: (a) píxel 0, (b) píxel 3, (c) píxel 12 y (d) píxel 15.

figura 5.13 muestran claramente que, a pesar del ruido medido en todos los píxeles, la esquina en la que se coloca la muestra se identifica fácilmente a partir del mapa de calor. Esto también se observa en los valores que se muestran en la tabla 5.9 que permite concluir que el sensor es capaz de discernir la radiactividad focalizada entre las diferentes zonas.

Tabla 5.9 Resultados de las mediadas en los 16 sensores cuando se coloca el vial en cada una de las esquinas del array.

	Vial en 0	Vial en 3	Vial en 12	Vial en 15
0	69	26	2	15
1	24	14	7	7
2	35	39	12	28
3	17	41	12	21
4	18	16	14	7
5	45	31	19	22
6	6	1	2	5
7	8	37	7	22
8	21	18	5	12
9	9	12	3	24
10	1	24	25	35
11	11	16	12	38
12	23	17	84	17
13	1	15	35	28
14	1	15	19	24
15	6	9	12	36

Estos resultados se pueden tratar para que el sistema pueda localizar la posición del vial. Para ello, se puede hacer una media ponderada de las medidas en los 16 píxeles para cada caso y de esta manera encontrar la localización media. A partir de esa media se puede calcular el error normalizado de cada pixel respecto a dicha localización media.

Estas pruebas permitieron verificar la capacidad del sensor para localizar la radiación focalizada sobre los diferentes píxeles del ArrayC-300035-16P. Por lo que era de esperar que se pudiese localizar, de igual manera, la posición de la radiación cuando el reactivo se encuentre en los diferentes módulos que componen el chip.

Detección de actividad en los módulos del chip de PDMS

Para realizar la prueba final del funcionamiento del sensor, se realiza un montaje que permite simular el funcionamiento del chip final para la generación de radiofármacos [88]. Al igual que las anteriores pruebas, estas se llevan a cabo en las instalaciones de la CNA (Centro Nacional de Aceleradores). Todo el sistema de medición y control de los compuestos se encuentra en una celda dispensadora equipada con las protecciones de seguridad adecuadas.

Como se explica en el capítulo 3, un chip microfluídico tendrá dos cámaras de intercambio iónico y una cámara de reacción. El propósito de esta sección es probar si las lecturas del array de sensores son adecuadas para determinar si el sistema es capaz de identificar en que momento la radiación está en una de las cámaras de intercambio o en la cámara de reacción. Para esto, será necesario medir si el flúor radioactivo ha sido atrapado en la cámara de retención y luego liberado, y también cuantificar el instante en que llega a la cámara de reacción. Para realizar la medida, el array debe colocarse sobre la cámara de intercambio y la cámara de reacción. En caso de necesitarse realizar mediciones en la segunda cámara de intercambio iónico se pueden probar otras disposiciones o incluso colocar un nuevo array. La figura 5.14 muestra la ubicación elegida del array bajo el chip, cubriendo la superficie de la cámara de retención y de la cámara de reacción.

Como se puede observar en la figura 5.15, ambas partes se colocan de tal manera que la cámara de retención se dispone en la zona cercana a los píxeles 2 y 3. Por su parte la cámara de reacción se coloca sobre los píxeles 8, 9, 12 y 13. De esta manera se simula de forma realista la posición de estos elementos sobre el sensor.

Para la prueba de funcionamiento del sensor, se utiliza un vial de 250 μL de [^{18}F]FDG con una radiación de 7 μCi , que se impulsan con 50 mbar de aire comprimido. Se utiliza el sistema de control de flujo microfluídico (MFCS-EZ, Fluigent) para impulsar el líquido por las distintas zonas. La salida del vial de carga está conectada por un tubo con un diámetro interno de 1/8" a la entrada de la cámara de purificación. El líquido entra en esta cámara y permanece en su interior durante 120 segundos. Otro tubo conecta la salida de la cámara de purificación con la entrada de la cámara de reacción. Este tubo es lo suficientemente largo como para almacenar todo el volumen, de tal manera que el líquido no está en ambas cámaras al mismo tiempo. La radiación permanece en la cámara de reacción durante 120 segundos. Finalmente, la solución sale de la cámara a un vial de residuos.

Al igual que en las pruebas preliminares realizadas con el sensor SiPM, el array se cubre con cinta adhesiva para evitar que los fotones de luz lleguen a los sensores. De la misma manera, se conecta el multiplexor analógico 16: 1 a las 16 salidas del sensor. Este a su vez

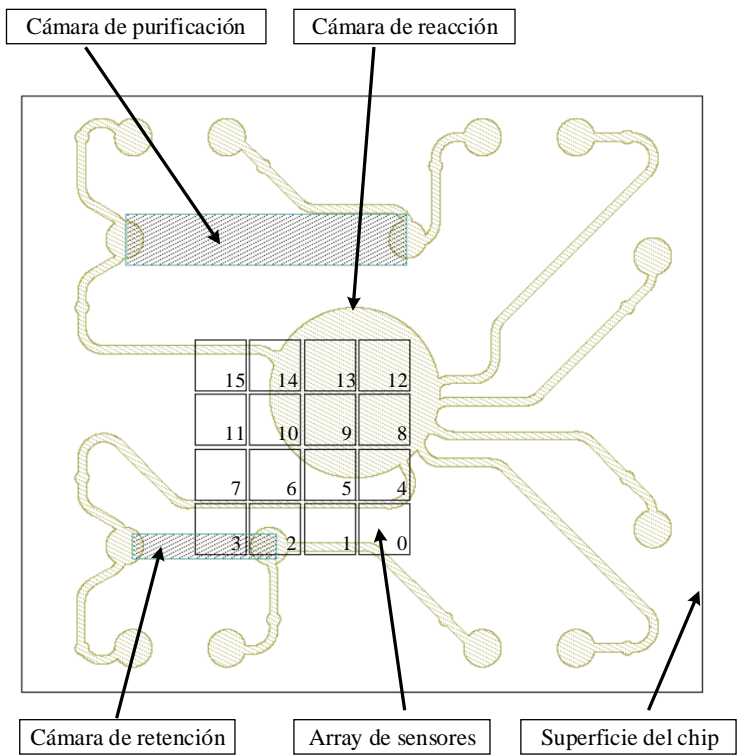


Figura 5.14 Posición relativa del array de sensores con respecto a la cámara de retención y a la cámara de reacción.

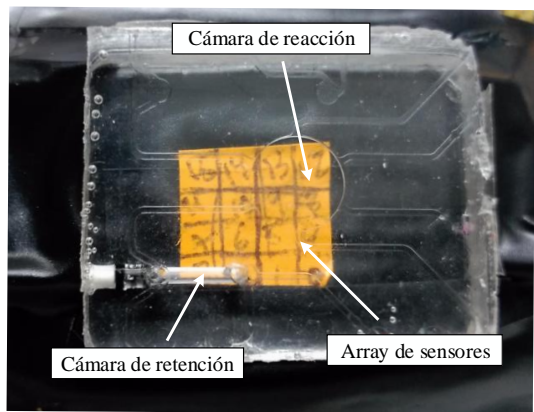


Figura 5.15 Posicionamiento del chip sobre el array para la realización de la prueba.

se conecta al convertidor de corriente a tensión, al circuito integrador y al amplificador, que adaptan las señales que finalmente se envían al microcontrolador.

El microcontrolador cambia el canal activo del multiplexor, muestreando cada sensor durante 0,5 s. Durante este tiempo se cuenta el número de fotones recibidos. Luego se mide el siguiente sensor hasta que los 16 hayan sido muestreados. El proceso de medida del array completo se realiza en 8 segundos, lo cual es lo suficientemente rápido para los valores de velocidad de flujo de reactivos típicos en el chip microfluídico. La medición final por sensor se da en cuentas por segundo (cps).

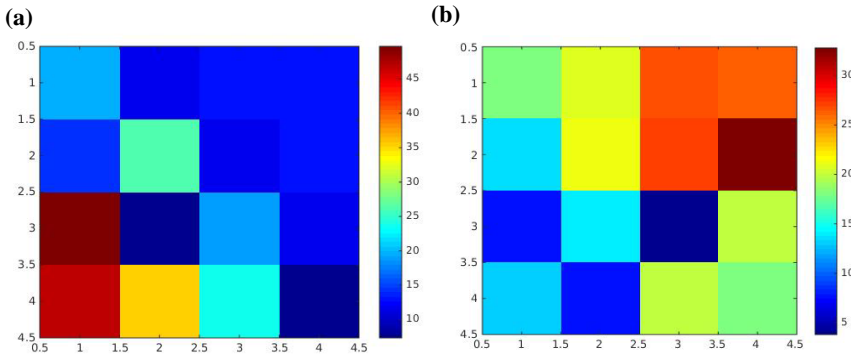


Figura 5.16 (a) Mapa de calor de la medición de actividad en la cámara de retención, píxeles 2 y 3. (b) Mapa de calor de la medición de actividad en la cámara de reacción, píxeles 8, 9, 12 y 13.

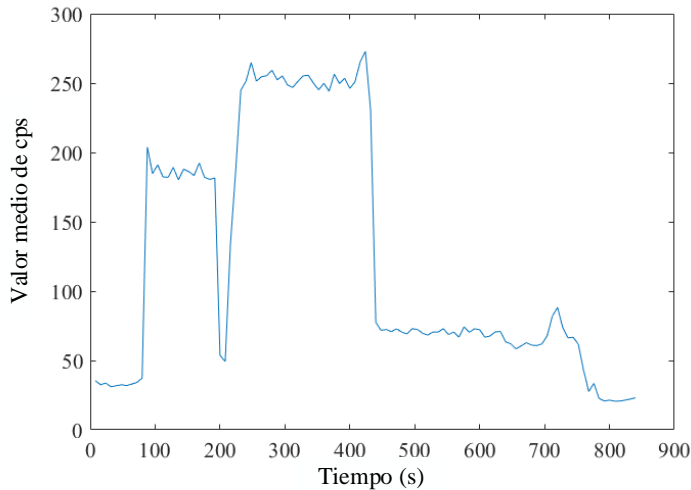


Figura 5.17 Gráfica que muestra el incremento de cps en cada una de las dos posiciones.

En la figura 5.16 se muestra el mapa de calor obtenido cuando la actividad pasa por las distintas zonas. Las celdas están numeradas del 0 al 15, comenzando con 0 en la

esquina inferior derecha, después se continúa numerando hacia la izquierda y hacia arriba, terminando en la esquina superior izquierda con la celda 15. En la figura 5.16 (a) se puede observar mayor radiación en los píxeles que se encuentran bajo la cámara de retención. De la misma manera, se puede observar en la figura 5.16 (b) como los cuatro píxeles que se localizan bajo la cámara de reacción miden un valor más elevado de radiactividad.

La gráfica de la figura 5.17 muestra el número de cuentas por segundo medidas en cada instante de la prueba realizada. Se puede observar cómo se localizan dos incrementos bien diferenciados en el número de cps que mide el array. El primer incremento se corresponde al tiempo que transcurre cuando la radiación se localiza en la cámara de retención y el segundo, al tiempo en que el líquido se posiciona en la cámara de reacción. Después se observa como el reactivo abandona ambas cámaras y el número de cps decae. También se observa como el número de cps es mayor en la cámara de reacción que en la de retención, esto se debe a que el volumen del reactor es mayor y el sensor detecta mayor índice radiactivo cuando se encuentra en ese punto.

Tras las pruebas realizadas se puede confirmar que el array SiPM es capaz de detectar la posición del reactivo en diferentes fases del proceso. Esto añade inteligencia al sistema, consiguiéndose una mayor realimentación y aumentando la capacidad de actuar sobre el proceso dependiendo del estado de la reacción. La posibilidad de conocer cuándo el reactivo abandona una de las cámaras de intercambio iónico y entra en el reactor permite señalar en que momento actuar sobre el sistema de válvulas para cerrarlas y comenzar con la reacción. Asimismo, se pueden detectar posibles pérdidas y de esta manera mejorar la eficiencia de la reacción. Por lo tanto, la integración de este sensor en el sistema supone una importante aportación en la mejora del proceso de síntesis del radiofármaco de manera no invasiva.

5.5 Síntesis de radiofármacos

En esta sección se va a explicar la validación del procedimiento para obtener la síntesis del [^{18}F]FMISO en el sistema propuesto. Para explicar mejor el proceso se indicará en primer lugar los pasos a seguir para conseguir la síntesis completa del radiofármaco y seguidamente las pruebas que se han realizado para validar el funcionamiento del sistema. Por último, se muestran los resultados obtenidos en la síntesis del radiofármaco en el sistema propuesto en esta tesis. Todas estas pruebas se realizaron en ambientes controlados en las instalaciones del CNA.

5.5.1 Proceso de síntesis completo

Para realizar la síntesis del [^{18}F]FMISO el procedimiento a seguir es similar en gran medida al que se sigue a nivel macrofluido en las instalaciones del CNA y que se explicó detalladamente en el capítulo 1. Evidentemente existen variaciones en los volúmenes, tiempos y temperaturas empleados que se relatan a continuación y que se han ajustado para este sistema a partir de las sucesivas pruebas realizadas.

La figura 5.18 muestra el esquema de las diferentes entradas y salidas microfluídicas. También se pueden observar los puntos de actuación de las válvulas que se emplean para controlarlas. Se ha optado por nombrar las entradas de la letra A a la G y las salidas de la

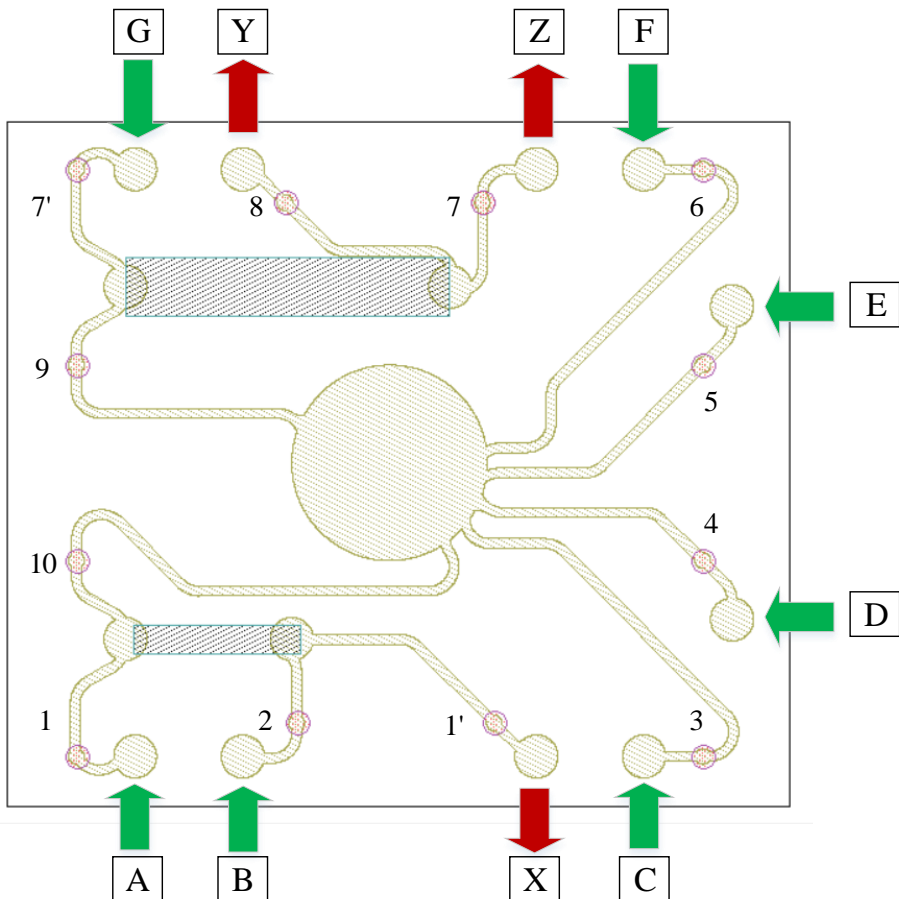


Figura 5.18 Esquema de las entradas (en verde) y salidas (en rojo) microfluídicas que intervienen en el proceso de síntesis.

Tabla 5.10 Entradas y salidas que intervienen en cada una de las fases de la síntesis.

Fase	Entrada	Salida	Válvulas	Reactivos
1. Retención	A	X	1, 1'	^{18}F
2. Elución 1	B	Y	2, 8, 9, 10	$\text{K}_2\text{CO}_3 + \text{K222}$
3. Fluoración	C	Y	3, 8, 9	MITTP
4. Hidrólisis	D	Y	4, 8, 9	HCl
5. Neutralización	E	Y	5, 8, 9	NaOH
6. Purificación	E	Y	5, 8, 9	NaOH
7. Elución 2	G	Z	7, 7'	Etanol

letra X a la Z. Las válvulas se han numerado del 1 al 10 según el método que se explica en el apartado 3.2.

Tabla 5.11 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(μ L)	Presión(mbar)	Temp.($^{\circ}$ C)	Vacío	T(s)
1. Retención	2000	100	No	No	40
2. Elución 1	15+15	100	115	Sí	720
3. Fluoración	30	15	100	No	240
4. Hidrólisis	30	15	110	Sí	300
5. Neutralización	100	15	No	No	40
6. Purificación	100	100	No	No	40
7. Elución 2	100	100	No	No	40

La tabla 5.10 resume las entradas y salidas empleadas en cada fase de la síntesis. También se especifican las válvulas que se abren para permitir el paso de los fluidos y los reactivos empleados. Por otro lado, la tabla 5.11 indica los parámetros principales que se emplean para poder realizar el proceso. Hay que recordar que todo este proceso puede ser automatizado mediante el programa de LabView que se explica en el apartado 4.1.

Como ya se ha comentado, para el caso del $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$, se obtiene mediante la sustitución nucleofílica del precursor NITTP con $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ siguiendo el método utilizado en [98]. El proceso seguido en las instalaciones del CNA con el módulo comercial se resume en el apartado 1.1.1.

En la fase de retención, el radioisótopo llega directamente del ciclotrón a un vial conectado a la entrada A del sistema, abriendo las entradas 1 y 1'. El $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ se obtiene en el Ciclotrón de 18/9 MeV. Los parámetros de bombardeo son de 35 μA en un target de Nb lleno de agua enriquecida Oxígeno-18. Por lo que se impulsan los 2 mL de $[^{18}\text{F}]\text{fluoruro}$ a 100 mbar de presión al interior de la cámara rellena con resina QMA (Waters Corporation, EE. UU.). El agua radiada sale por X y se recoge en un vial.

En la elución se introducen una solución acuosa de 15 μL de 6 mg/mL de K_2CO_3 y se añaden 15 μL de 15 mg/mL de Kryptofix K.2.2.2 en acetonitrilo. Se impulsan a 100 mbar por la entrada B abriendo las válvulas 2, 8, 9 y 10. El reactivo entra en el reactor y permanece en él, ya que tiene un volumen suficiente para evitar la salida de los líquidos por Y. Se calienta a 115 $^{\circ}\text{C}$ haciendo vacío hasta su total evaporación y cerrando todas las válvulas, produciéndose la destilación azeotrópica de ambos reactivos.

El siguiente paso es la fluoración, para ello se introducen en el reactor 30 μL de 5 mg/mL del precursor NITTP (ABX GmbH, Alemania) diluidos en acetonitrilo anhidro. Se introduce por la entrada C, abriendo las válvulas 3, 8 y 9, con una presión de impulsión de 15 mbar. Se produce la reacción a 100 $^{\circ}\text{C}$, cerrando todas las válvulas, llegando a secar el producto, sin la necesidad de realizar el vacío. Al venir disuelto en acetonitrilo no es necesario el vacío ya que es una sustancia muy volátil y tiene mayor facilidad para traspasar la membrana.

A continuación se lleva a cabo la hidrólisis ácida del grupo protector tetrahidropiraniolo introduciendo en el reactor 30 μL de HCl 1 N por la entrada D abriendo las válvulas 4, 8 y 9 a 15 mbar. La reacción se realiza durante cinco minutos a 100 $^{\circ}\text{C}$ realizando el vacío y cerrando todas las válvulas. En este caso no es necesario llegar al secado del producto.

Tras la hidrólisis es necesario neutralizar la solución añadiendo 100 μL de NaOH 1N. Se introduce por la entrada E a 15 mbar abriendo las válvulas 5, 8 y 9. La neutralización

se realiza sin necesidad de calentamiento.

Para la purificación del radiofármaco se debe pasar la solución por las tres resinas contenidas en la cámara: alúmina (Waters Corp, EE. UU.), SCX (Grace Davison Discovery Science, EE. UU.) y tC18 (Waters). Como se ha comentado eluir el producto de esta resina es dificultoso incluso a nivel macrofluídico y disminuye la eficiencia de la reacción. En caso de no emplear esta resina, permanecen abiertas las válvulas 5, 8 y 9 y se aumenta la presión de impulsión por la entrada E a 100 mbar para que la solución venza la resistencia fluidifica de la resina y se recoja en un vial conectado a la salida Y, que contendrá el [¹⁸F]FMISO purificado.

En caso de emplear la resina tC18, se realiza la elución de esta cámara debido a que el producto final se encuentra retenido en la misma. Para ello, se eluye la cámara de tC18 con 100 µL de etanol por la entrada G y se recoge en un vial colector conectado a la salida Z. En este paso se abren las válvulas 7 y 7'y se impulsa el fluido a 100 mbar. Como se puede observar, la entrada F queda libre de uso, en el caso de esta síntesis.

Una vez que se sintetiza el radiofármaco es imprescindible realizar un control de calidad sobre el mismo para comprobar su grado de pureza empleando un HPLC.

5.5.2 Primera prueba de síntesis

Para realizar las primeras pruebas de funcionamiento del reactor se considera que es conveniente reducir la mayor parte de los pasos que forman la síntesis, centrándose en los más importantes para la realización del marcaje de la molécula. Además se considera que para comenzar a probar el funcionamiento del reactor es interesante simplificar su fabricación para poder realizar mayor número de pruebas y que el trabajo sea eficiente. Como el objetivo es conseguir el marcaje, también se decide trabajar con [¹⁹F]fluoruro, puesto que al no ser radiactivo permite introducir los líquidos de manera manual obteniéndose la síntesis de igual forma que si se hiciera con [¹⁸F]fluoruro. Todas estas simplificaciones han permitido realizar multitud de pruebas hasta alcanzar un método que puede implementarse en el sistema final. El montaje empleado para realizar esta prueba se puede ver en la figura 5.19.

Tabla 5.12 Entradas y salidas que intervienen en cada una de las fases de la síntesis.

Fase	Entrada	Salida	Válvulas	Reactivos
1. Mezcla	C	Y	3, 8, 9	NaF + K222
2. Fluoración	D	Y	4, 8, 9	MITTP
3. Hidrólisis	E	Y	5, 8, 9	HCl
4. Neutralización	F	Y	6, 8, 9	NaOH

Por lo tanto, puesto que el funcionamiento de las cámara de retención y purificación quedaron demostrados en el apartado 5.1, se decide prescindir de esta parte del proceso y comenzar la síntesis a partir de la elución de la cámara de retención. En este punto el fluoruro retenido en la resina QMA debe ser eluido hacia la cámara con una mezcla de K₂CO₃ y de Kryptofix K 2.2.2

En el primer paso se debe realizar la destilación aceotrópica de la solución. Se introduce una mezcla de 15 µL de NaF con una concentración de 10 mg/mL y 15 µL de K 2.2.2

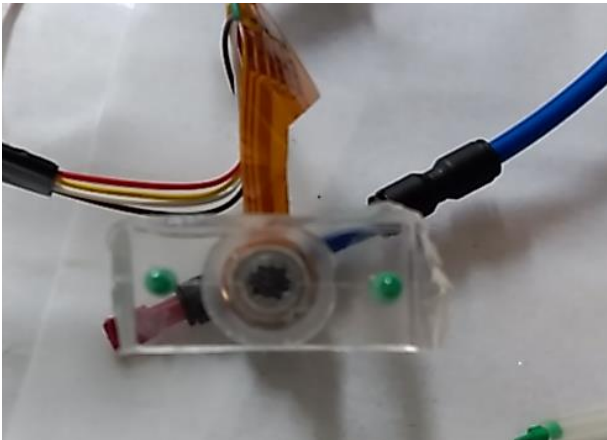


Figura 5.19 Colocación del chip con una entrada y una salida sobre el sistema de transferencia de calor y de vacío para la realización de pruebas.

Tabla 5.13 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(μ L)	Presión(mbar)	Temp.($^{\circ}$ C)	Vacío	T(s)
1. Mezcla	15+15	15	110	Sí	840
2. Fluoración	30	15	100	No	300
3. Hidrólisis	30	15	100	Sí	300
4. Neutralización	30	15	No	No	40

Tabla 5.14 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(mL)	Temp.($^{\circ}$ C)	Vacío	T(s)
1. Mezcla	1+1	85	Sí	600
2. Fluoración	1	100	Sí	480
3. Hidrólisis	1	100	No	300
4. Neutralización	1	No	No	50

con una concentración de 15 mg/mL. Nótese que se prescinde del K₂CO₃ debido a que el fluoruro se introduce unido al sodio y su comportamiento será similar al que tendría si se empleará con el potasio. Todos los reactivos se introducen de forma manual, impulsándolos al interior del reactor con la ayuda de una jeringa.

Las entradas y salidas empleadas para realizar estas pruebas se pueden ver en la tabla 5.12. El resto de parámetros empleados en cada una de las fases se observan en la tabla 5.13.

Una vez que la mezcla se introduce en el reactor se calienta y se desgasifica hasta conseguir el secado completo del producto. Tras esto, se realiza la fluoración, en este paso no se hace el vacío ya que se favorece el marcaje de la molécula, al venir disuelto el precursor MITTP en acetonitrilo y ser más volátil que el agua no es necesario utilizar la

bomba de vacío para que los gases atraviesen la membrana porosa. Tras esto se realiza la hidrólisis, en la que de nuevo se hace el vacío mientras se calienta la mezcla sin llegar a secarla. Finalmente, se neutraliza el reactivo y se saca todo el volumen obtenido del reactor para su análisis.

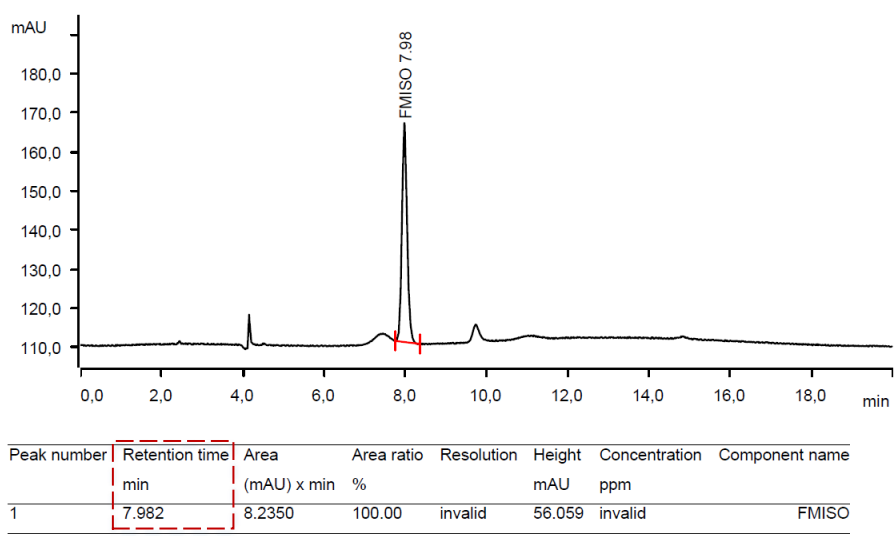


Figura 5.20 Cromatograma del patrón de [19F]FMISO .

Para comparar el resultado obtenido se realizan estos mismos pasos en el módulo de síntesis Tracerlab FXFN. La diferencia principal viene dada por los volúmenes que se emplean además de otros parámetros secundarios. Todos estos valores se resumen en la tabla 5.14.

Comparando los tiempos obtenidos en cada fase del sistema propuesto con los del Tracerlab FXFN se observa que son similares. Hay que tener en cuenta que se da un tiempo mayor al necesario al microrreactor para que éste quede completamente seco y asegurar un resultado válido. En las sucesivas pruebas estos tiempos se van reduciendo llegando a tener un tiempo de reacción total más reducido que el del módulo comercial.

Para analizar las muestras y saber la cantidad de [19F]FMISO obtenido es necesario introducirlas en el HPLC. Cada muestra que se introduce debe tener un volumen de 40 µL. Antes de introducir la muestra se pasa un patrón de [19F]FMISO para saber el instante de tiempo en que el HPLC detecta el pico correspondiente, estos tiempos suelen variar ligeramente por factores como la temperatura o pequeñas obstrucciones en la columna cromatográfica. La lectura del patrón se puede ver en la figura 5.20, muestra como el [19F]FMISO aparece a los 7,98 segundos.

Seguidamente se analizan las pruebas realizadas. El resultado de la prueba realizada con el Tracerlab FXFN se muestra en la figura 5.21 (a). Integrando el área bajo la curva del pico de [19F]FMISO obtenido, da como resultado un valor de 0,1414 (mAU)/min. Por otro lado, la figura 5.21 (b) muestra el área bajo la curva obtenida en la muestra realizada

con el chip de PDMS, con un valor de 0,0932 (mAU)/min.

Hay que decir que estos picos no son visibles debido a que se produce un escalado en la gráfica por la aparición de impurezas producidas por la falta de utilización de las resinas de purificación, pero pueden apreciarse haciendo zoom en la zona deseada. Por otro lado, se puede ver que la cantidad de [^{19}F]FMISO obtenida en el chip de PDMS es inferior a la de la muestra extraída del Tracerlab FXFN, esto se solventará en la siguiente prueba. Aun así, se ha conseguido un método para la síntesis de [^{19}F]FMISO en el interior del reactor de PDMS.

5.5.3 Segunda prueba de síntesis

Viendo el resultado de la prueba anterior, se decide repetir el procedimiento intentando aumentar la cantidad de [^{19}F]FMISO obtenida para que se equipare con el resultado conseguido por el módulo Tracerlab FXFN. Se observa que los volúmenes iniciales introducidos en el Tracerlab FXFN son proporcionalmente mayores que los introducidos en el chip de PDMS. Para equiparar los resultados, será necesario aumentar las concentraciones de NaF y K 2.2.2 para que los valores de ambos módulos sean comparables.

Por lo tanto, para conseguir el mismo producto en proporción se doblan las concentraciones de NaF a 20 mg/mL y de K 2.2.2 a 30 mg/mL. Los parámetros que se utilizan para realizar la prueba se especifican en la tabla 5.15.

Tabla 5.15 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(μL)	Presión(mbar)	Temp.($^{\circ}\text{C}$)	Vacío	T(s)
1. Mezcla	15+15	15	110	Sí	600
2. Fluoración	30	15	100	No	300
3. Hidrólisis	30	15	100	Sí	300
4. Neutralización	30	15	No	No	40

Tras la neutralización se extrae el producto obtenido de la cámara de reacción y se analiza en el HPLC. La figura 5.22 muestra los resultados obtenidos en el cromatograma en el que se obtiene un área bajo la curva de 0,1611 (mAU)/min. En comparación con el resultado obtenido en la prueba de la figura 5.21 (a) donde la cantidad de [^{19}F]FMISO obtenida fue de 0,1414 (mAU)/min, se ve cómo se consiguió un valor muy similar, siendo incluso mayor la cantidad conseguida con el chip de PDMS. Esto ratifica la importancia de mantener las concentraciones de los reactivos para poder conseguir resultados favorables. Por otro lado, en la figura 5.22 se analiza otro pico obtenido a los 4,84 minutos que coincide con el tiempo del dismetilismo. Este producto surge cuando el fluoruro no se une correctamente a la molécula MITTP, es una impureza que podrá ser eliminada en la fase de purificación.

Esta prueba confirma que el reactor utilizado es capaz de obtener cantidades de fármaco similares o superiores al módulo comercial, siempre y cuando se respeten las concentraciones necesarias para obtener la cantidad de producto deseado.

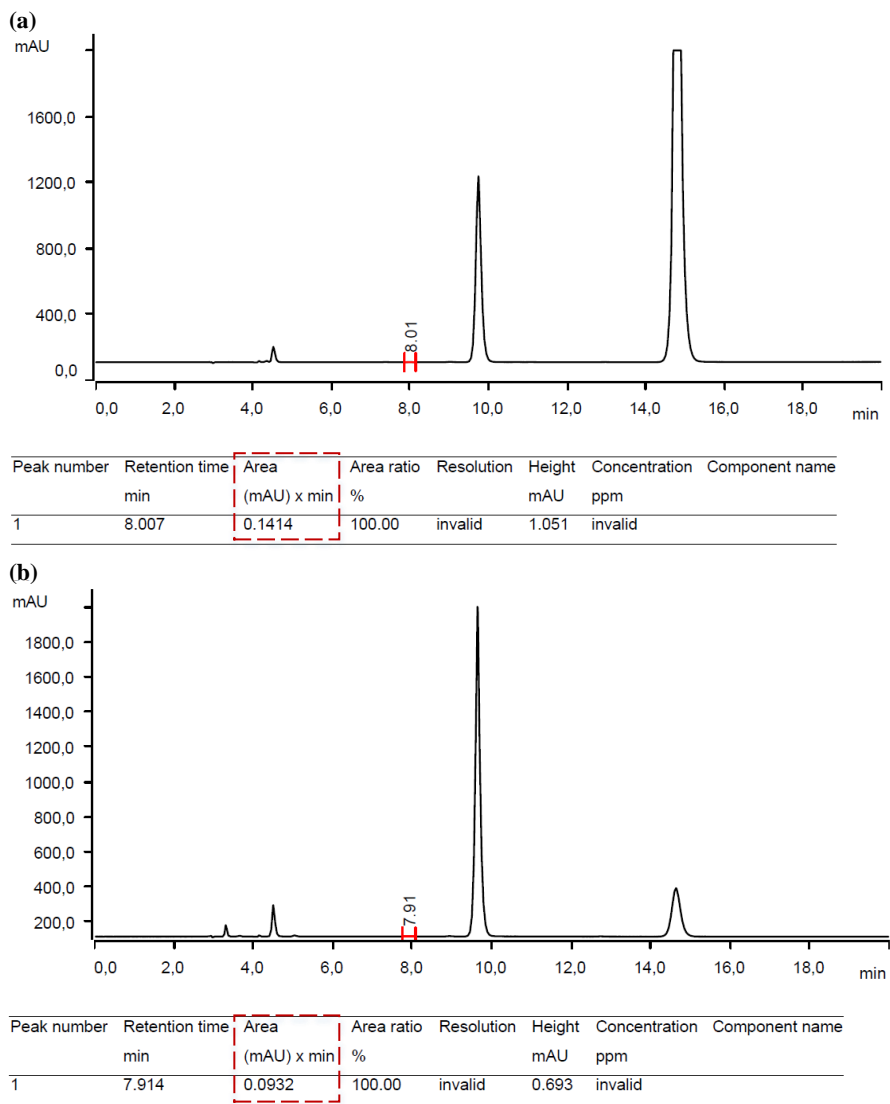


Figura 5.21 (a) Cromatograma de la prueba realizada en el Tracerlab FXFN. (b) Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS.

5.5.4 Tercera prueba de síntesis

Una vez ajustados los parámetros y habiéndose confirmado la metodología a seguir se decide emplear el sistema completo para realizar la prueba. Así se utilizará el diseño final del chip y el resto de componentes fabricados (sistema de válvulas, de temperatura, control con LabView...).

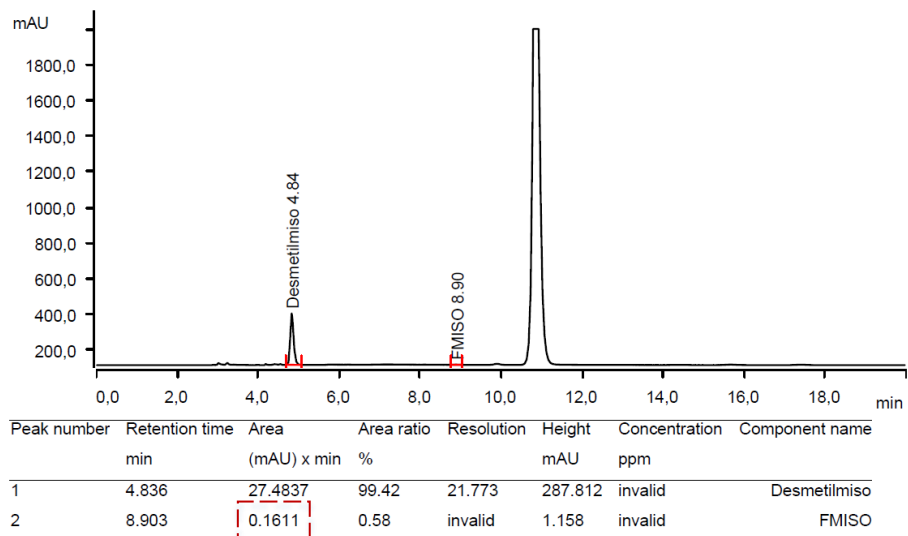


Figura 5.22 Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con mayor concentración inicial.

Los parámetros empleados en esta prueba se pueden ver en la tabla 5.16 y son similares a los anteriormente empleados. La mayor diferencia es que se utiliza mayor volumen en la neutralización, lo cual hará se consiga mayor volumen de producto aunque se diluya más la muestra. En la figura 5.23 se muestra el resultado del cromatograma en el que se consigue obtener [¹⁹F]FMISO utilizando el sistema completo, se observa cómo al introducir un volumen más diluido la cantidad de producto obtenida es menor. A cambio, al tener más volumen, se pudieron analizar más muestras.

Tabla 5.16 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(μL)	Presión(mbar)	Temp.(°C)	Vacío	T(s)
1. Mezcla	15+15	15	115	Sí	660
2. Fluoración	30	15	100	No	180
3. Hidrólisis	30	15	100	Sí	300
4. Neutralización	100	15	No	No	40

Se decide volver a repetir la prueba introduciendo como variación las resinas de purificación. En este caso se considera suficiente con incluir alúmina y SCX en la cámara. Los parámetros empleados son los mismos que los de la prueba anterior, tabla 5.16. Se vuelve a realizar la neutralización con 100 μL de NaOH, en esta ocasión debido a que se necesita emplear más volumen para compensar las pérdidas producidas por el paso del reactivo por las resinas de purificación. Los resultados se pueden ver en la figura 5.24. Se aprecia una reducción significativa del pico producido por las impurezas catiónicas que confirma el correcto funcionamiento de la resina SCX, la cual elimina el K 2.2.2 no

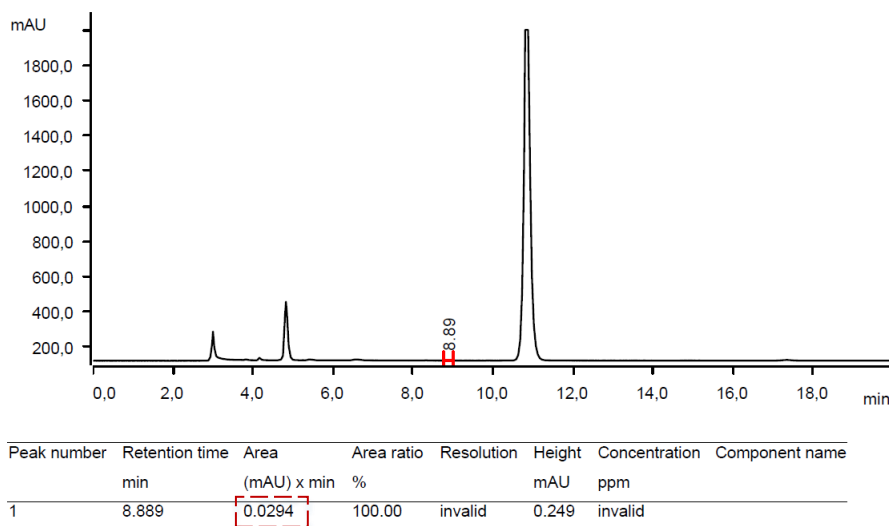


Figura 5.23 Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo.

reaccionado. Mientras que en la figura 5.23 se observa como el pico de estas impurezas es superior a 1800 mAU, en la figura 5.24 se ve que el mismo pico solo supera levemente las 320 mAU. El efecto de la alúmina para la eliminación del flúor libre no puede apreciarse en este cromatograma, puesto que el HPLC necesita otra longitud de onda y otro tipo de columna cromatográfica para este análisis.

Estas pruebas confirman el funcionamiento correcto del sistema completo. Con esto se ratifica que el dispositivo propuesto funciona de manera adecuada.

5.5.5 Cuarta prueba de síntesis

Esta última prueba consistirá en la síntesis del radiofármaco [^{18}F]FMISO empleando para ello [^{18}F]fluoruro radioactivo en el sistema completo de síntesis de radiofármacos propuesto en esta tesis. Con la obtención de este producto se considera validado el prototipo diseñado y permite confirmar su correcto funcionamiento.

Para realizar esta prueba se sigue un procedimiento similar al de pruebas anteriormente descritas. Evidentemente al estar trabajando con material radioactivo es necesario seguir ciertas pautas de seguridad. Para realizar esta prueba se solicita un bombardeo completo. El producto del target se envió a cartucho de extracción en fase sólida de QMA en una celda de dispensación separada, y se eluyó con 0,5 mL de K_2CO_3 con 6 mg/mL de solución acuosa para preconcentrar el [^{18}F]fluoruro. Seguidamente se impulsa hacia un vial de recogida del que se extraen 15 μL que introducen en el vial número 3 del sistema microfluidico junto con 15 μL de K 2.2.2 con una concentración de 15 mg/mL.

Una vez introducido la mezcla en el vial se coloca en el sistema de impulsión junto con el resto de reactivos y se cierra la celda de dispensación que contiene el sistema. Se activa el vacío y la extracción de gases de la celda para eliminar los vapores de la síntesis. Los

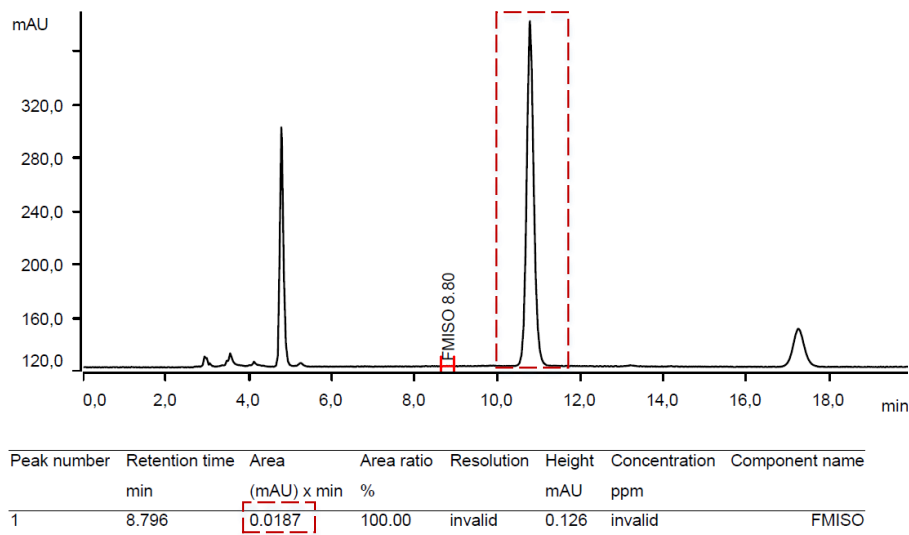


Figura 5.24 Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo, incluyendo las resinas de purificación.

parámetros empleados para la síntesis se reflejan en la tabla 5.17 y son similares a los de las pruebas anteriores. En este caso se ha decidido reducir el tiempo y la temperatura de la hidrólisis ya que en diversas pruebas se observó que no influía en el resultado final y se aceleraba el proceso de síntesis.

Tabla 5.17 Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis.

Fase	Vol.(μL)	Presión(mbar)	Temp.(°C)	Vacío	T(s)
1. Mezcla	15+15	15	115	Sí	720
2. Fluoración	30	15	100	No	180
3. Hidrólisis	30	15	60	Sí	180
4. Neutralización	100	15	No	No	40

Los resultados obtenidos en el análisis con el HPLC se pueden ver en la figura 5.26. En este caso el detector utilizado para realizar el análisis es el de radiación, en lugar del detector de UV empleado para las pruebas anteriores. Se observa cómo se detecta un primer pico de radiación a los 3,19 minutos correspondiente al ¹⁸F]fluoruro no reaccionado y un segundo pico a los 8.27 minutos correspondiente al ¹⁸F]FMISO, con un área bajo la curva de 68,1043 mV/min. Hay que tener en cuenta que este detector se ha ajustado con una sensibilidad en la que por cada 100 cuentas detectadas le corresponde 1 mV en la gráfica. En la figura 5.27 se puede ver el patrón empleado para verificar que el producto obtenido es ¹⁸F]FMISO, obteniéndose un pico a los 8,18 minutos, muy similar al tiempo de la prueba. La pequeña diferencia se debe a que los detectores empleados son distintos, puesto que para el patrón se utiliza el detector UV.

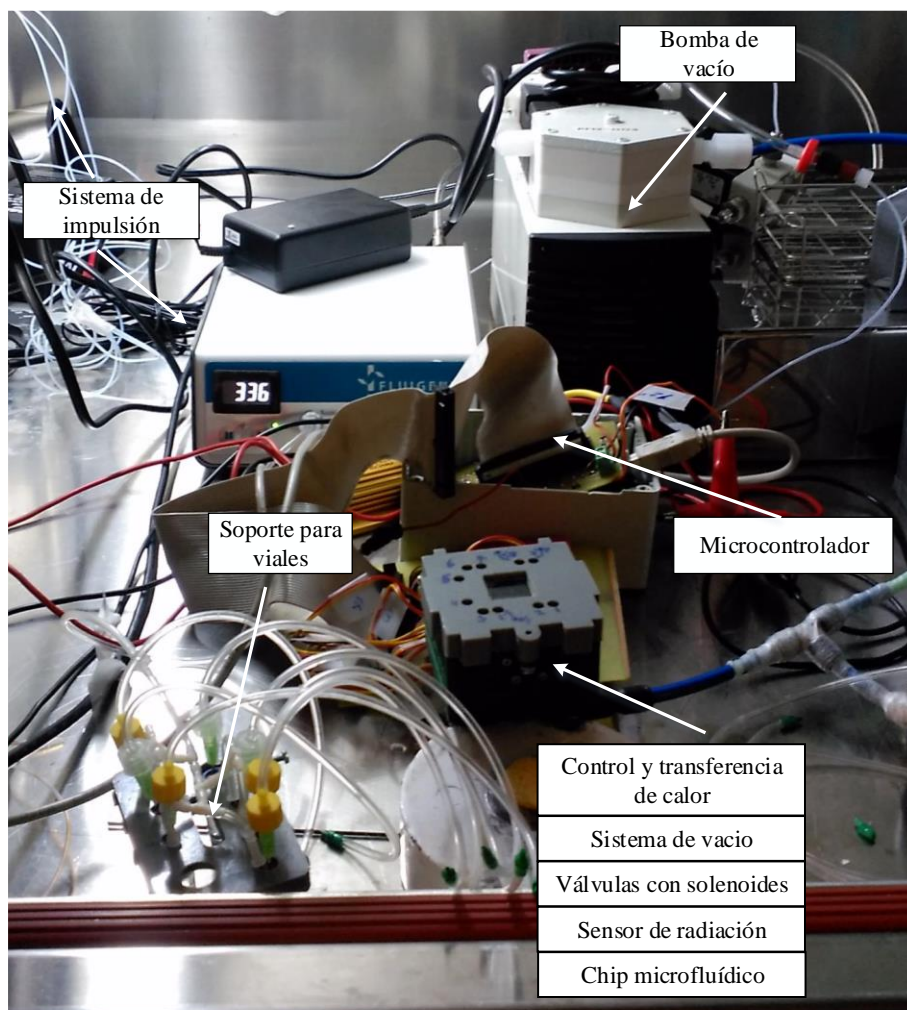


Figura 5.25 Setup del sistema en el módulo de dispensación de las instalaciones del CNA.

Con estas pruebas se confirma que el dispositivo diseñado es capaz de sintetizar un radiofármaco con el método seguido en el transcurso de las pruebas. De esta forma se puede afirmar que se ha conseguido diseñar un novedoso sistema de generación de radiofármacos completo capaz de producir [^{18}F]FMISO de manera eficiente y que abre la posibilidad de realizar otro tipo de síntesis siguiendo procedimientos similares.

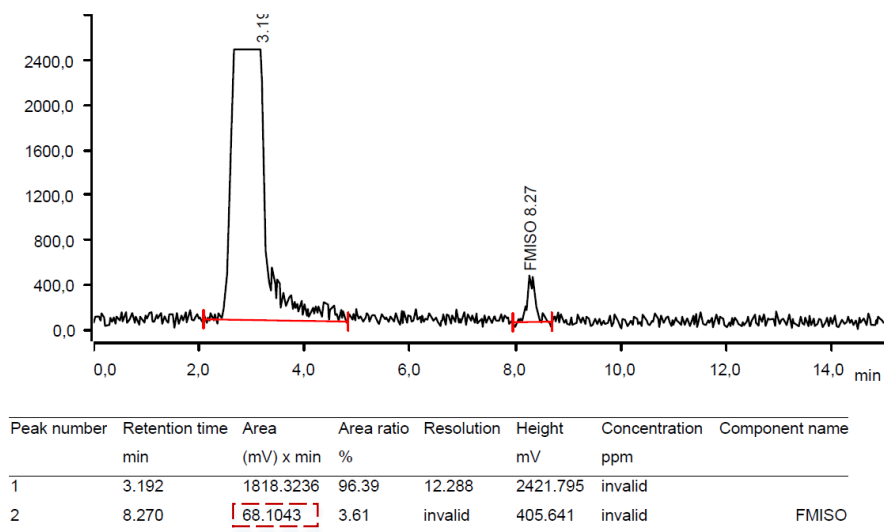


Figura 5.26 Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo con $[^{18}\text{F}]$ fluoruro, obteniéndose $[^{18}\text{F}]$ FMISO.

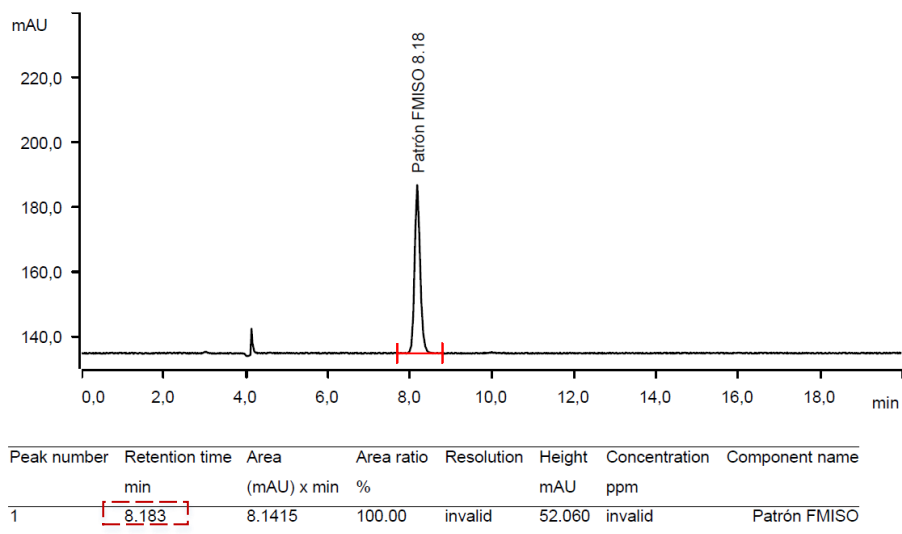


Figura 5.27 Cromatograma del patrón de $[^{18}\text{F}]$ FMISO para validar la prueba.

6 Conclusiones y trabajos futuros

Al inicio de esta memoria se indicaron los objetivos que debían cumplirse para que la presente investigación se considere completa. Con los resultados obtenidos es de destacar que dichos objetivos han sido alcanzados, además de haberse presentado un conjunto de aportaciones relevantes y originales en el campo de los dispositivos microfluídicos, particularmente en los orientados a la generación de radiofármacos.

6.1 Conclusiones

El objetivo principal de esta tesis era realizar un sistema de generación de radiofármacos PET que mejorase los actuales procesos de producción y optimizar la eficiencia de los protocolos de generación de dichos radiofármacos. Para ello se perfeccionaron las etapas del proceso buscando en cada momento reducir los costes. Los sistemas microfluídicos empleados realizaron su función de manera correcta, efectuando en cada paso el necesario control y monitorización del sistema.

El sistema de impulsión escogido, que utilizaba aire comprimido para el movimiento de los distintos reactivos demostró ser una opción viable y efectiva. Al no precisar de partes móviles, aumentaba la seguridad del conjunto disminuyendo el área de contaminación por radiación. Además, permitía que el sistema se pudiese acoplar fácilmente a los centros médicos para mejorar la eficiencia del fármaco reduciendo las pérdidas ocasionadas por el transporte. El sistema de válvulas propuesto se adaptaba perfectamente a este tipo de impulsión de fluidos, siendo una manera original y eficaz de desplazar los diferentes reactivos a los módulos del chip. La alineación de los solenoides empleados con los puntos de presión de los canales microfluídicos consiguió solventarse con el diseño del encapsulado de los solenoides y el chip microfluídico, que alineaba perfectamente ambas partes.

Sobre el diseño del chip empleado, se intentó reducir al máximo el tamaño del mismo para disminuir los costes de fabricación. El empleo del PDMS supuso numerosas ventajas, ya que su biocompatibilidad lo hace ideal para este tipo de aplicaciones biológicas. Varios autores indican que existe una posible interacción química entre el [^{18}F] fluoruro empleado

en la síntesis y el PDMS. Para comprobar cómo esto puede afectar al proceso se realizaron pruebas para determinar esta posible interacción. Para ello, se utilizaron diez cámaras de reacción de PDMS de 30 μL con actividades crecientes de [^{18}F] fluoruro, que oscilan entre los 37 MBq y 22,2 GBq. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se encontró una absorción considerable del [^{18}F] en PDMS cuando este material se encuentra bajo condiciones de calentamiento y vacío comúnmente utilizadas. Para las actividades más altas, se midió menos del 0.3 % de la radioactividad en el chip. Esto permitió determinar que el PDMS es un material conveniente para este propósito.

La membrana que se utilizó ha realizado su función adecuadamente a la hora de extraer los gases del interior del reactor. Además, el dispositivo expresamente diseñado para calentar y realizar el vacío en la superficie de la membrana demostró cumplir con él cometido para el que fue fabricado. Se consiguió un equilibrio perfecto en el funcionamiento de todas estas partes, evitándose uno de los problemas fundamentales de esta zona del sistema, la rotura de la membrana durante la reacción. La combinación de un espesor de la membrana adecuado con la separación justa entre la base del calentador y la cámara de reacción, consiguió evitar el problema. Tras las pruebas se determinó que el espesor de la membrana debe tener 50 μm . También es necesaria una separación de al menos 1 mm entre la base del calentador y la membrana en reposo. Tampoco es aconsejable que el volumen de reactivo supere el 60 % del volumen de la cámara de reacción. El sistema fue capaz de evaporar 15 μL de agua en un tiempo promedio de 6,38 minutos en un reactor de 30 μL .

Otra de las contribuciones principales de este estudio fue la integración de los módulos de intercambio iónico en el interior del chip microfluídico. Esto permitió conseguir un sistema mucho más compacto que reduce considerablemente los costes de producción del dispositivo. El chip final es un laboratorio completo que permite generar radiofármacos PET con un área efectiva de apenas 14 cm^2 de superficie. La eliminación de agentes contaminantes también se vio beneficiada al desechar un único dispositivo después de su uso, favoreciéndose la producción en serie. En las pruebas realizadas en el módulo de retención se alcanzaron porcentajes muy cercanos al 100 % de retención y de elución para valores de radiactividad cercanos a 500 μCi . También se determinó la velocidad de flujo adecuada para impulsar los reactivos por el interior de la cámara, siendo esta de 180 $\mu\text{L} / \text{min}$. Se comprobó cómo el volumen de [^{18}F] fluoruro empleado influye poco en el funcionamiento, considerándose adecuado un volumen de muestra cercano a 0,1 mL. También se observó cómo en ciclos repetitivos de retención y elución, se logran buenas tasas de retención, pero los resultados de elución no son lo suficientemente buenos si no se aumenta el volumen de eluyente. Por último, se realizaron pruebas de capacidad máxima en la que se determina que la cámara es capaz de retener más de 1000 mCi, valor más que suficiente para las dosis de PET inyectadas en humanos. En cuanto a la cámara de purificación se realizaron pruebas sobre las dos resinas que retendrán las impurezas catiónicas y aniónicas. En cuanto a la resina SCX, se determinó que a partir de 5 mg se consiguió retener el producto y se consideró que la purificación es adecuada. Para probar la otra resina se introdujeron 40 mg de alúmina y 5 mg de SCX en una cámara realizada en PDMS. Se determinó que la resina fue capaz de retener más de 330 mCi de [^{18}F] fluoruro.

Para gobernar todos los módulos que conforman el dispositivo se elaboró un sistema de control que permite la síntesis del radiofármaco. Se procuró que el sistema de automatiza-

ción sea intuitivo para que pueda ser fácilmente manejado por personal no familiarizado con procesos industriales complejos. Es por ello que se optó por un interfaz gráfico de programación en LabView. En él se incluía el control de flujo de reactivos, que permitía variar la presión y el volumen de impulsión según las necesidades. También accionaba las distintas válvulas que abrían el paso a los reactivos en el interior del chip. Además, controlaba el proceso de reacción con el sistema de transferencia de calor y la extracción de gases. A lo largo de las pruebas realizadas se ha visto que la funcionalidad y la comunicación con el sistema era más que adecuada, habiéndose conseguido programar un software robusto.

Se ha procurado dotar al sistema de la inteligencia necesaria mediante la incorporación de sensores que permiten la monitorización del proceso. Se destaca por un lado, el sensor de temperatura incorporado en el PCB flexible y que permitía regular el proceso mediante el uso de un control PID. Por otro lado, también se incluye el sensor de radiación que destaca como una contribución muy importante de esta tesis, ya que permitía aumentar el control del sistema lo que se traduce en una mejora del proceso y del producto obtenido. El funcionamiento de este sensor SiMP se terminó validando en un dispositivo realizado en PDMS. Se utiliza un vial de 250 μL de [^{18}F] fluoruro con una radiación de 7 μCi , que se impulsan con 50 mbar de aire comprimido. El líquido permanece 120 segundos en la cámara de retención y 120 segundos en la cámara de reacción. Se observa un aumento en el número de cps que miden los píxeles que se localizan bajo cada una de las cámaras en los instantes en que el líquido se encuentra en ellas. La posibilidad de conocer cuando el reactivo abandona una de las cámaras de intercambio iónico y entra en el reactor permite, por ejemplo, señalar en que momento actuar sobre el sistema de válvulas para cerrarlas y comenzar con la reacción. Así mismo, se pueden detectar posibles pérdidas y de esta manera mejorar la eficiencia de la reacción.

Finalmente se ha realizado la validación del procedimiento para obtener la síntesis del [^{18}F]FMISO en el sistema propuesto. Para ello se proponen los parámetros necesarios que se deben emplear para sintetizar el radiofármaco. Para conseguirlo se han realizado varias pruebas que han permitido ir acotando qué valores son los adecuados, centrándose en los pasos para el marcaje de la molécula. En las primeras pruebas también se decidió trabajar con [^{19}F] fluoruro, puesto que al no ser radiactivo permitió introducir los líquidos de manera manual obteniéndose la síntesis similar a la obtenida con [^{18}F] fluoruro. La primera prueba realizada en un chip de PDMS con un resultado positivo tiene un área bajo la curva en el tiempo de retención del FMISO de 0,0932 (mAU)/min. En la segunda prueba se aumentan las concentraciones para alcanzar un valor más cercano a lo que se obtiene en el módulo comercial Tracerlab FXFN y se obtuvo un área bajo la curva de 0,1611 (mAU)/min. En comparación con el resultado obtenido en la prueba del Tracerlab FXFN donde la cantidad de FMISO obtenida fue de 0,1414 (mAU)/min, se observó cómo se consiguió un valor muy similar, siendo incluso mayor la cantidad conseguida con el chip de PDMS. En la tercera prueba se apreció una reducción significativa del pico producido por las impurezas catiónicas que confirmó el correcto funcionamiento de la resina SCX, la cual elimina el K 2.2.2 no reaccionado, se observó que el pico pasa de 1800 mAU a 320 mAU.

La última prueba consistió en la síntesis del radiofármaco [^{18}F]FMISO empleando para ello [^{18}F] fluoruro radioactivo y que permitió verificar el correcto funcionamiento del

sistema de síntesis de radiofármacos propuesto en esta tesis. El patrón empleado para verificar que el producto obtenido es [^{18}F]FMISO, obteniéndose un pico a los 8,18 minutos. En el análisis de la prueba, se observó cómo se detectó un primer pico de radiación a los 3,19 minutos correspondiente al [^{18}F] fluoruro no reaccionado y un segundo pico a los 8,27 minutos correspondiente al [^{18}F]FMISO, con un área bajo la curva de 68,1043 mV/min.

6.2 Trabajos futuros

A partir del trabajo presentado se abre la posibilidad de incluir mejoras o iniciar nuevas líneas de investigación que permitan completar y enriquecer el estudio realizado.

Una de las mejoras más evidentes sería la de añadir robustez mecánica al sistema. Lo presentado, aunque totalmente funcional, no deja de ser un prototipo en el que muchas de las piezas están realizadas con una impresora 3D. El conjunto podría mejorar si estas partes se fabricasen en otros materiales como por ejemplo aluminio, además se podrían plomar varias zonas estratégicas para reducir la contaminación radiológica. Por otro lado, se pueden unir todas las partes que conforman el sistema en un único encapsulado para reducir el tamaño total del dispositivo.

También sería interesante reducir los tiempos de reacción. Para ello se pueden hacer pruebas intentando disminuir el grosor de la membrana para mejorar la desgasificación de la cámara de reacción, teniendo en cuenta las limitaciones en la fabricación. Por otro lado, se pueden reducir los volúmenes de los reactivos aumentando la concentración, lo que reduciría el tamaño de la cámara y aumentaría la velocidad de la reacción.

Para reducir pérdidas de los volúmenes empleados y aumentar la eficiencia del sistema, sería conveniente reducir la longitud de los tubos empleados acercando los reactivos al chip lo más posible. Para ello habría que mejorar el soporte que contiene los viales e integrarlo de alguna manera en el encapsulado del chip microfluídico.

Aunque la funcionalidad del sensor de radiación SiPM ha quedado demostrada, es necesario integrarla tanto físicamente en el sistema como en la programación del software. Lo único que sería necesario hacer es indicar al sistema que funcionalidades se quieren controlar cuando el sensor detecte la radiación en una determinada zona del dispositivo. Una de las posibles soluciones sería la incorporación de una red neuronal de procesamiento de imágenes para adquirir la información.

En esta tesis se ha decidido sintetizar el radiofármaco [^{18}F]FMISO debido principalmente a que no es de los más comunes y supone añadir una novedad más al estudio. A la vista de los resultados, es de esperar que otros radiofármacos más empleados como el [^{18}F] FDG, [^{18}F] NaF o [^{18}F] FLT puedan sintetizarse de manera similar.

Por último, el dispositivo propuesto no deja de ser un reactor con un sistema de impulsión de reactivos controlado. Esto permite abrir el campo de actuación para realizar otro tipo de procesos no relacionados con la síntesis de radiofármacos. Los microrreactores tienen multitud de aplicaciones en biomedicina [95] o relacionadas con el diagnóstico de enfermedades [70]. Pero también en otros campos distintos, como purificación de agua [13] o aplicaciones con derivados del grafeno [112]. Todo esto hace que el sistema presentado

permita avanzar en diversos enfoques de investigación que se espera que continúen en los próximos años.

Apéndice A

Procesos de Fabricación

A.1 Proceso de fabricación del chip microfluídico

En este apartado se explicará todo el proceso de fabricación del dispositivo microfluídico final. Se describirán detalladamente todos los pasos a seguir para obtener el chip desarrollado.

A.1.1 Diseño

Para la fabricación del chip se comienza con la obtención de un molde de SU-8. Para ello se realiza el diseño del dispositivo utilizando el programa L-Edit (Tanner EDA), en el que se define el tamaño, la disposición de los distintos elementos, etc. Además, es imprescindible tener en cuenta para el diseño el lugar que ocupan los solenoides y su coincidencia con los canales. Por ello, se provecha para dibujar donde van a ir colocados estos dispositivos para tenerlo en cuenta en el diseño de la estructura que los alberga. Para todo ello, se hace uso de las distintas capas de que disponemos para dibujar todos los elementos necesarios. A partir de este diseño se obtendrán las máscaras fotolitográficas necesarias para la fabricación del molde. Este diseño se muestra en la figura A.1.

A.1.2 Fabricación de máscaras

Para conseguir la máscara que deseamos en el fotolito se ha hecho uso del fotoplóter FP-8000. Con esto se consigue una máscara semirrígida de alta calidad con una resolución de unas decenas de micras. Antes de enviar nuestra máscara al fotoplóter para que se inicie la impresión debemos colocar el fotolito en el rodillo. Para manipular estos fotolitos será necesario mantener todas las luces apagadas y utilizar únicamente la luz verde, cuya longitud de onda no afecta al fotolito, el cual se coloca en el rodillo para comenzar con la impresión del modelo.

Una vez que termina el proceso de impresión se preparan tres cubetas para revelar el fotolito. En una echamos el líquido revelador, en otra agua y en la última el líquido fijador. Para hacer el revelador, mezclar una parte de “Developer RA2000” con dos partes

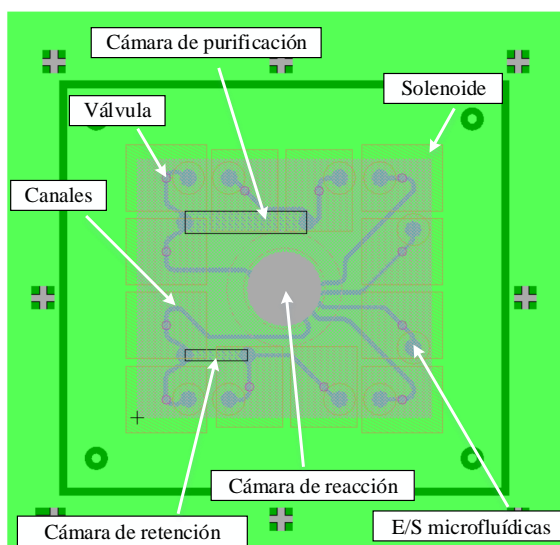


Figura A.1 Layout del dispositivo, las distintas capas representan cada una de las partes del chip y su colocación para coincidir con las partes más importantes del sistema (válvulas, calentador...) .

de agua, y para el fijador mezclar una parte de “Fixer RA3000” con tres partes de agua. Generalmente estos líquidos ya se encuentran mezclados en el laboratorio.

Con las luces de nuevo apagadas se saca el fotolito del fotoplóter sumergirlo en el revelador durante aproximadamente 40 segundos mientras agitamos suavemente la cubeta. Transcurrido este tiempo, enjuagamos bien el fotolito en la cubeta de agua, para eliminar todo el revelador. Con sumergirlo unos 5 minutos en el fijador será suficiente, por último volvemos a enjuagar el fotolito en el agua para quitarle los restos del fijador y se deja secar.

Con este método se realizan dos máscaras negativas para realizar los canales de SU-8 (figura A.2 (a) y (b)) y una máscara positiva para realizar el ataque de cobre sobre el PCB (figura A.2 (c)).

A.1.3 Preparación del sustrato

Como sustrato para el molde se utiliza una placa de PCB en la cual se empleará el proceso de fotolitografía sobre el cobre para realizar marcas de alineación de las distintas máscaras. La placa de PCB se cortará mediante sierra con un tamaño de 8x8 cm. Posteriormente se le someterá a un lijado de las aristas de los bordes. El PCB utilizado tendrá cobre en una de sus caras con un espesor de 35 μm , figura A.3 (a).

El siguiente paso será proceder a la fotolitografía del PCB, superponiendo sobre el PCB la máscara de las pistas de cobre que obtuvimos anteriormente. A continuación se realiza una exposición de luz ultravioleta en la insoladora. En este caso la mantenemos en la insoladora durante 1 minuto y 40 segundos para posteriormente proceder al revelado de

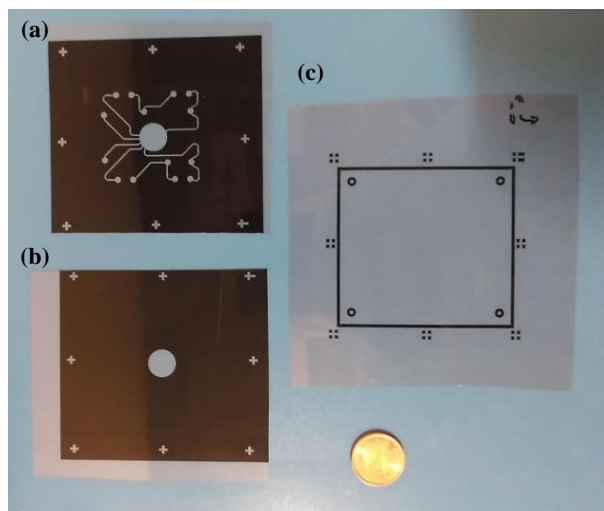


Figura A.2 (a) Fitolito para la realización de la cámara y los canales, con las marcas de alineación. (b) Fitolito para dar la altura deseada a la cámara, con las marcas de alineación. (c) Fitolito para la fabricación de las marcas de alineación en el PCB. .

la misma en el banco húmedo. Para ello utilizamos el líquido revelador, formado por sosa caustica disuelta en agua.

Seguidamente se procede al atacado químico con una mezcla formada por una parte de agua oxigenada (H_2O_2), una de agua fuerte (H_2ClO_3) y dos de agua (H_2O). El ácido eliminará el cobre que ha sido expuesto a la luz pero no el que está protegido por la pequeña película que define las pistas. Por último, cuando hemos comprobado que las pistas están bien definidas, se procede a la limpieza con agua corriente y a la eliminación de la fotorresina mediante acetona. De esta manera se obtiene un sustrato en el que se marcan las crucetas que nos permiten la alineación de las máscaras y las marcas para alinear el encapsulado para el PDMS (marco de alineación y marcas de los taladros para los tornillos). La figura A.3 (b) muestra el PCB tras el ataque ácido.

A.1.4 Fabricación del molde de SU8

Para la realización del molde para los canales y la cámara se realizan varias deposiciones de resina fotosensible SU-8 en la oblea de PCB con las marcas de cobre. Para mejorar la adherencia de las distintas capas se realiza una primera deposición de muy poco grosor que denominaremos capa semilla.

Capa semilla

El primer paso es realizar una deposición de SU8 sobre la oblea. Como se necesita que el SU8 quede uniformemente extendido se utiliza un revestidor de giro o spin coater. Por lo tanto, se coloca la oblea sobre el plato giratorio que quedará fija al mismo mediante succión. Se vierte el SU8 lentamente de modo que se deposite una gota de tamaño suficiente en

el centro de la placa, en el caso que nos ocupa, es decir, la capa semilla, se emplea el SU-8 2005. Es un SU-8 de baja viscosidad que permite la realización de capas de pequeño grosor. Es entonces cuando se programa el spin coater a 3000 rpm durante 1 minuto.

El siguiente es conseguir la eliminación del disolvente de la resina aplicándole calor mediante un proceso de soft bake. Al eliminar este disolvente que tiene la resina, esta se endurece y podemos trabajar con ella en el posterior proceso de fotolitografía. Para ello se coloca la oblea en el hot plate, se calienta a 65°C y se deja la placa durante 5 minutos para que no reciba cambios bruscos de temperatura. A continuación, se aumenta la temperatura hasta los 105°C y se calienta durante 20 minutos, después se deja enfriar durante 5 minutos.

La fotorresina contiene unos fotoácidos que se sensibilizan con la exposición ultravioleta, esto permite que, con una posterior exposición al calor, aquellas zonas que hayan sido expuestas a luz ultravioleta polimericen y se endurezcan. Mientras que aquellas que no se hayan expuesto (gracias a las zonas oscuras de la máscara) puedan eliminarse en un posterior proceso de revelado. Se desea que esta capa polimerice completamente, por lo tanto se expone a luz ultravioleta sin máscara en la máquina de alineación. Se realizan 6 repeticiones de exposición de 20 segundos cada una, con un descanso de 15 segundos entre una y otra. Después se coloca en el hot plate de nuevo durante 4 minutos a 65°C y seguidamente se aumenta hasta los 95°C durante 5 min. Este tiempo es más que suficiente para la polimerización, figura A.3 (c).

Capa para los canales

A continuación se realizan el resto de capas que dará forma a la microfluídica del chip. Se desea que los canales tengan una altura de 150 μm y la cámara una altura de 600 μm . Por ello, se fabrica una primera capa de 150 μm que incluya ambas estructuras y posteriormente tres capas más de 150 μm solamente para la cámara, para que alcance la altura deseada.

Sobre el sustrato PCB con capa semilla se deposita en el spin coater una gota de SU-8 2050 de tamaño suficiente y se programa a 700 rpm durante 1 minuto. Se realiza el soft bake en el hot plate a 65°C durante 5 minutos y seguidamente a 105°C durante 30 minutos. Una vez enfriada, se coloca en la insoladora y se alinean las crucetas del sustrato con las formas cuadradas de la máscara de los canales y la cámara. El proceso de alineación se realiza con la ayuda de un microscopio y con una serie de mandos que posee la alineadora para poder mover el soporte de la placa sobre los tres ejes y que coincida con la máscara. Se realizan 6 exposiciones de 20 segundos, con 15 segundos de descanso entre cada una de ellas, figura A.3 (d).

Capas para la cámara

Una vez marcados los canales se depositan el resto de capas para terminar de fabricar la cámara. Se realizan tres deposiciones de SU-8 2050 programándose el spin coater a 700 rpm. Se realiza un calentamiento en el hot plate entre cada deposición de 65°C durante 5 minutos seguidos de 105°C durante 30 minutos. Tras depositar la última capa se habrá alcanzado la altura de 600 μm , es entonces cuando se realiza un último calentamiento de 5 minutos a 65°C y de 3 horas a 105 °C. Se aumenta sensiblemente el tiempo de calentamiento, ya que, al ser tantas capas, es necesario asegurar que el calor llegue a la

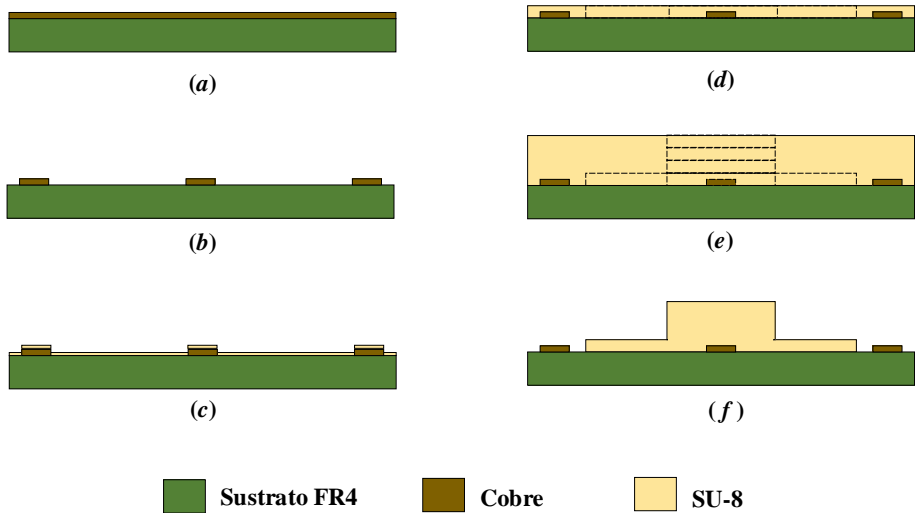


Figura A.3 (a) Vista lateral del sustrato PCB para la fabricación del molde. (b) Atacado químico del cobre para dejar las marcas de alineación. (c) Deposición de la capa semilla. (d) Deposición de la capa de $150\ \mu\text{m}$ para los canales y la cámara. (e) Deposición del resto de capas para la cámara de $600\ \mu\text{m}$. (f) Molde terminado una vez realizado el revelado.

parte superior durante el tiempo suficiente. Se deja enfriar y nos aseguramos de que la deposición de todas las capas está dura.

Se coloca la máscara para la cámara en la insoladora y se vuelve a alinear con respecto al sustrato de tal manera que vuelvan a coincidir las marcas. Se realizan 10 exposiciones de 20 segundos, con un descanso de 15 segundos entre cada una de ellas. Se aumenta el tiempo de exposición para asegurar que la luz ultravioleta atraviesa todas las capas de SU-8.

Para terminar de polimerizar la fotorresina se coloca en el hot plate durante 45 minutos a 65°C y luego durante 5 minutos a 95°C , figura A.3 (e).

Revelado

Finalmente, se procede al revelado. Para ello, en el banco húmedo, aplicamos el revelador de SU-8 sobre una cubeta y sumergimos la oblea durante 15 minutos, agitando suavemente para que llegue de la manera más uniforme posible a todas las zonas. En este punto debemos ser capaces de ver los canales que se han formado donde se recibió luz ultravioleta y por donde circularán los fluidos.

Se realiza una limpieza con isopropanol para eliminar los restos de revelador y de SU-8 que puedan haber quedado. Por último, tras un secado con nitrógeno, se procede a la inspección del componente al microscopio, realizando las correspondientes mediciones para asegurar su viabilidad. Tras realizar los taladros de 3 mm que permitirán la alineación con el encapsulado realizado con la impresora 3D, se habrá terminado con la fabricación del molde de SU-8. La figura A.3 (f) muestra el resultado final.

A.1.5 Fabricación del chip de PDMS

El último paso consiste en la fabricación del chip en PDMS. El PDMS incorpora un agente curante que permite la solidificación del polímero cuando se adiciona en una determinada proporción. Para el caso de este chip se realizan dos volúmenes de PDMS distintos con diferentes proporciones, uno para el chip y otro para la membrana que cerrará los canales.

Existen autores que realizan chips parecidos mediante el empleo de la activación de las superficies por plasma de oxígeno. En este caso se prefiere emplear una técnica que permite el pegado de las partes mediante el control de las proporciones del agente curante y los tiempos de curado.

Mezclado y desgasificación del PDMS

Para el caso del chip realizaremos la mezcla en una proporción de 1:10. Así, sobre un recipiente desechable, se pesan en la balanza de precisión 10 g de PDMS y sobre este se añaden 0,1 g de agente curante. En otro recipiente se realiza la mezcla para la membrana con una proporción de 1:20. Con lo cual, será suficiente con pesar 5 g de PDMS y añadir 0,25 g de agente curante. Ambos recipientes se mezclan con una varilla de vidrio y se introducen en una campana de vacío durante 30 minutos para eliminar las burbujas producidas por el mezclado.

Preparación del molde

Mientras tanto se procede a la preparación del molde. Para ello se realiza la limpieza de todas las partes que lo conforman con isopropanol. Deben quedar limpios tanto el molde de SU-8 como el encapsulado fabricado con la impresora 3D. Ambas partes se unen mediante los tornillos que se emplean tanto para cerrar el conjunto como para alinearlos. Para que quede hermético el molde se cierra con tuercas y se coloca una placa de aluminio de 5 mm para favorecer la distribución de la presión. La parte realizada con la impresora del molde no deja de ser un marco cuyo fondo se realiza con un rectángulo de metacrilato de 5 mm para que se pueda ver el interior durante el llenado. Para evitar fugas se incorpora una junta fabricada en etilvinilacetato. En uno de los laterales del molde se introducen dos varillas que darán forma a las cámaras de intercambio iónico. La figura A.4 (a) representa esta parte del proceso.

Inyección del PDMS en el molde

Para rellenar el molde se introduce la mezcla desgasificada con proporción 1:10 en una jeringa, la cual se conecta en el lateral superior del encapsulado poniendo este en posición vertical. Se introduce lentamente la mezcla en el molde procurando evitar la formación de burbujas. Para la salida del aire se incorpora un orificio de purga en una de las esquinas superiores. Una vez llenado se cierran los orificios de llenado y de purga con sendos tapones fabricados con neopreno, figura A.4 (b).

Deposición de la membrana

Para fabricar la membrana se coloca sobre el spin coater (SMA Spinner 6000 Pro) una oblea de vidrio sobre la que se adhiere una lámina de acetato. Sobre este se vierte la mezcla de PDMS con proporción 1:20 y se programa para funcionar a 1300 rpm durante 1 minuto. Con esto obtendremos una fina lámina de 50 μm de espesor, que favorecerá la salida de los

gases a través de la misma durante la reacción. El hecho de realizar la membrana sobre el acetato favorecerá el posterior despegado, ya que su adherencia es menor que si el proceso se hiciera directamente sobre el vidrio, figura A.4 (c).

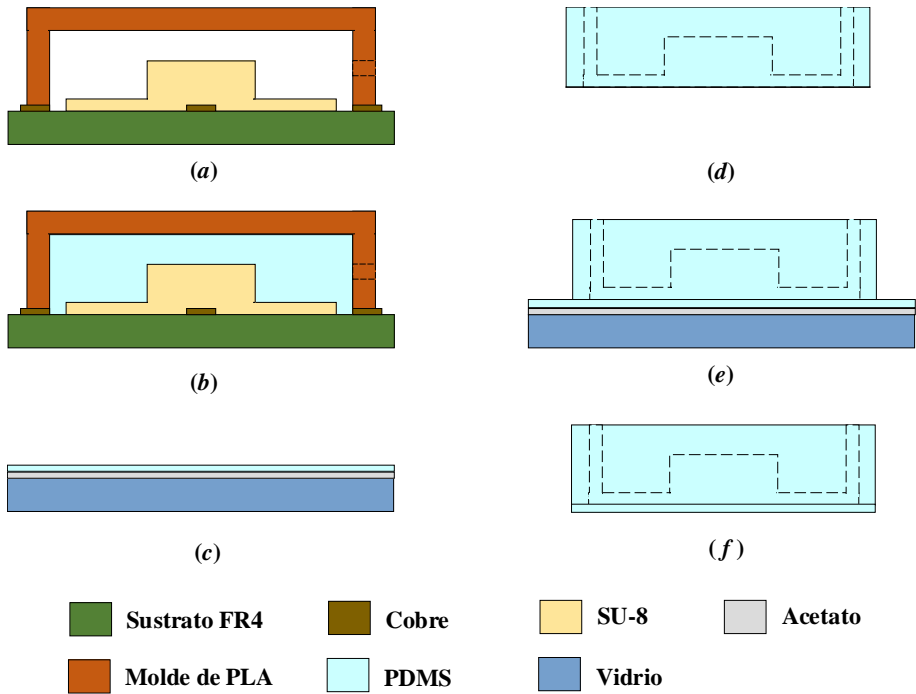


Figura A.4 (a) Vista lateral del sustrato PCB con el encapsulado de PLA. (b) Inyección del PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip y realización de los orificios. (d) Colocación del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (e) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (f) Separación del chip microfluídico del acetato.

Curado inicial del PDMS y preparación para el pegado

Ambas partes se introducen en el horno a 65°C durante 45 minutos, que previamente se ha encendido para que se establezca en dicha temperatura. Tras este tiempo se saca del horno y se procede al desmoldado del chip y a la realización de los orificios para introducir posteriormente los líquidos. Para ello se emplea un punch de biopsia de 2 mm de diámetro y una estructura realizada con la impresora 3D que marca los puntos donde se van a realizar los taladros. Una vez realizados los orificios, se extrae el material desechable de su interior mediante la utilización de pinzas, figura A.4 (d).

También es necesario realizar los orificios que conectan las cámaras de intercambio iónico con los canales. En dichos orificios se introducen filtros de 2 mm de diámetro que permiten que las partículas que forman las resinas de intercambio permanezcan en las

cámaras. Estos filtros tienen un tamaño de poro de 25 μm . El proceso de fabricación de las cámaras de intercambio iónico se explicó más detalladamente en la sección 3.4.

Curado final del PDMS y despegado

Por último se cierran los canales con la membrana colocando la parte superior del chip sobre el acetato con PDMS. Ambas partes se introducen en el horno a 80°C durante una hora. De esta manera se producirá a unión permanente del conjunto, figura A.4 (e). Una vez transcurrido este tiempo se despega con sumo cuidado el chip con membrana del acetato procurando evitar roturas, figura A.4 (f).

Con esto quedará fabricado el chip a falta de introducir las resinas de intercambio iónico.

A.1.6 Proceso de fabricación de las cámaras de intercambio iónico

Para un mejor entendimiento de cómo se procede a la fabricación se explicará para una única cámara de intercambio iónico. La diferencia principal con el dispositivo final es que estos módulos de retención y purificación conectan, mediante canales microfluídicos, con la cámara de reacción. En el dispositivo final existen dos cámaras de intercambio que difieren en los volúmenes de resina que albergan. El procedimiento que se explica a continuación se refiere a la cámara de retención de [^{18}F].

Preparación del molde

Para fabricarlo, se realizó un molde de SU-8 sobre PCB con canales de 150 μm de alto y 500 μm de ancho, que conectarían la entrada y la salida de chip con la entrada y la salida de la cámara de intercambio iónico. Sobre el PCB se coloca un encapsulado realizado con la impresora 3D, que contiene una barra de 1.55 mm de diámetro y que se alinea con los anteriores canales. Se puede observar una imagen del encapsulado descrito en la figura 3.34 (a). Esta barra dejará un hueco en el interior del chip que será nuestra cámara de intercambio iónico. La longitud final del cartucho es de 9,5 mm. La figura A.5 (a) muestra dicho molde.

Mezclado y desgasificación del PDMS

El PDMS con proporción con el agente curante de 1:10 se desgasifica en la campana de vacío durante 30 minutos. Luego se vierte sobre el molde y se polimeriza en el horno durante 45 minutos a 65 °C, figura A.5 (b). Al mismo tiempo, se fabrica la membrana que cerrará los canales. Para ello, se coloca sobre el Spin Coater una oblea de vidrio sobre la que se adhiere una lámina de acetato. Sobre este se vierte la mezcla de PDMS con proporción 1:20 y se programa para funcionar a 1300 rpm durante 1 minuto. Con esto obtendremos una fina lámina de 50 μm de espesor que se cura a la vez que el chip.

Extracción del chip y preparación para el pegado

Una vez transcurrido el tiempo se sacan ambas partes del horno. Para desmoldar el chip se extrae primero la barra que da forma a la cámara de intercambio y seguidamente se saca el chip del molde, figura A.5 (c). Es entonces cuando se realizan los orificios de 2 mm para la entrada y salida de fluidos y los que conectan los canales con el interior de la cámara. En estos últimos se introducen dos filtros de 20 μm de tamaño de poro y 2,2 mm de diámetro (ExtraBond Scharlau). Estos filtros impiden que las partículas de resina salgan de la cámara, permitiendo el paso de los reactivos, figura A.5 (d).

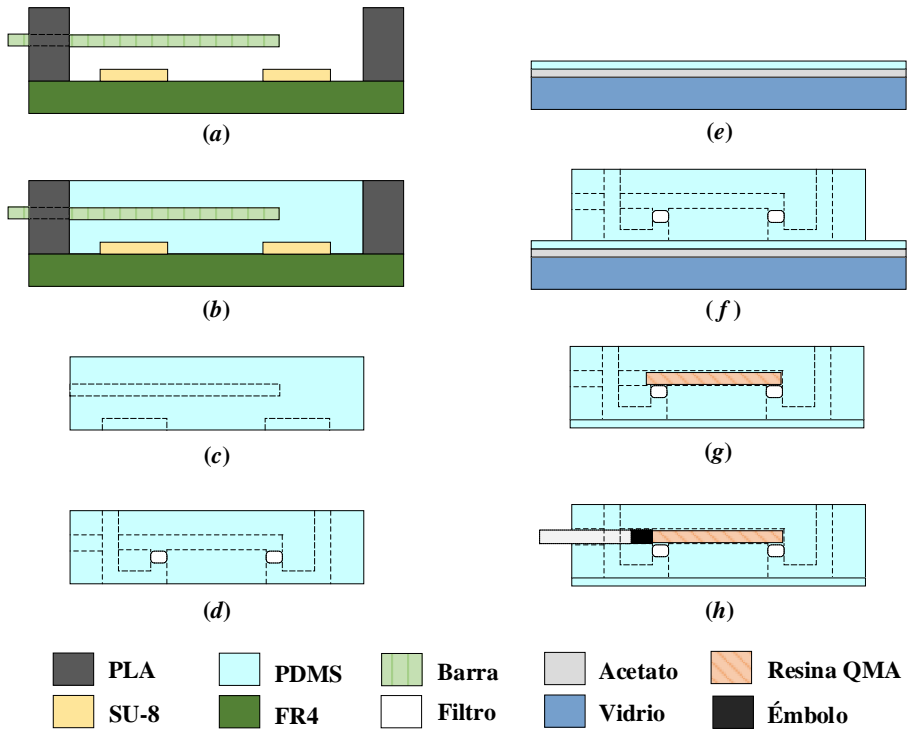


Figura A.5 (a) Vista lateral del sustrato PCB con los canales de SU-8. Sobre el mismo se coloca el encapsulado de PLA y la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip. (d) Realización de los orificios y colocación de los filtros. (e) Superposición del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (f) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (g) Separación del chip microfluídico del acetato y relleno con la resina QMA. (h) Cerrado de la cámara con un émbolo de jeringa.

Curado final del PDMS

Una vez colocados los filtros, el chip de PDMS se coloca sobre la membrana y vuelve a introducirse en el horno durante 1 hora a 85°C , figura A.5 (e). De esta manera se consigue la unión permanente de ambas partes, figura A.5 (f).

Introducción de las resinas

Tras la fabricación de la cámara, se procede a rellenarla. En el caso de la resina QMA ($60\ \mu\text{m}$ de diámetro, Waters) se hace pasar 2 mL de agua desionizada con una disolución de 15 mg de resina a través de el orificio de llenado (que es que produce la barra que da forma a la cámara en el lateral del chip), figura A.5 (g). Cuando toda la resina está en el interior de la cámara se seca con aire y se cierra el orificio de llenado con un émbolo de jeringa, figura A.5 (h). Con esto quedará fabricada la cámara de intercambio iónico.

Apéndice B

Esquemáticos adicionales

B.1 Esquemáticos del array SiPM

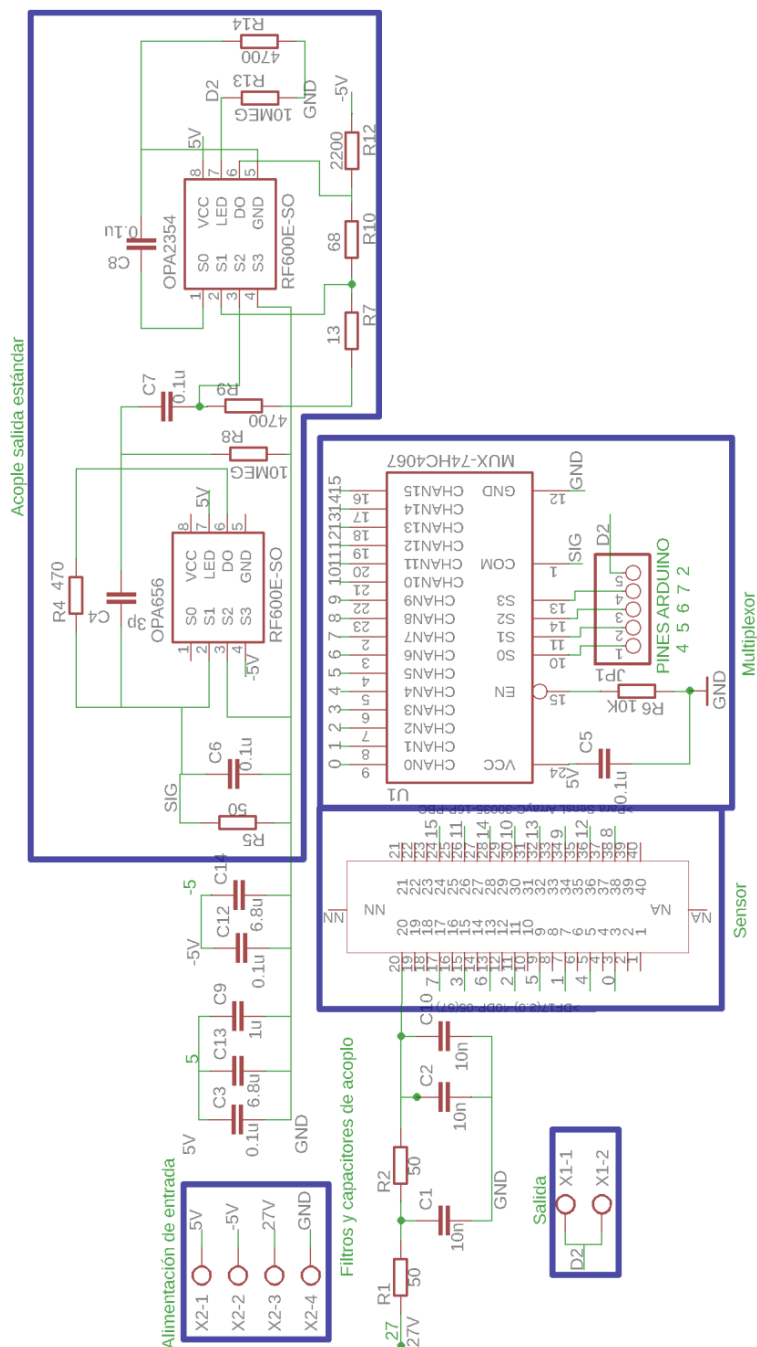


Figura B.1 Versión implementada del array SiPM en la presente tesis.

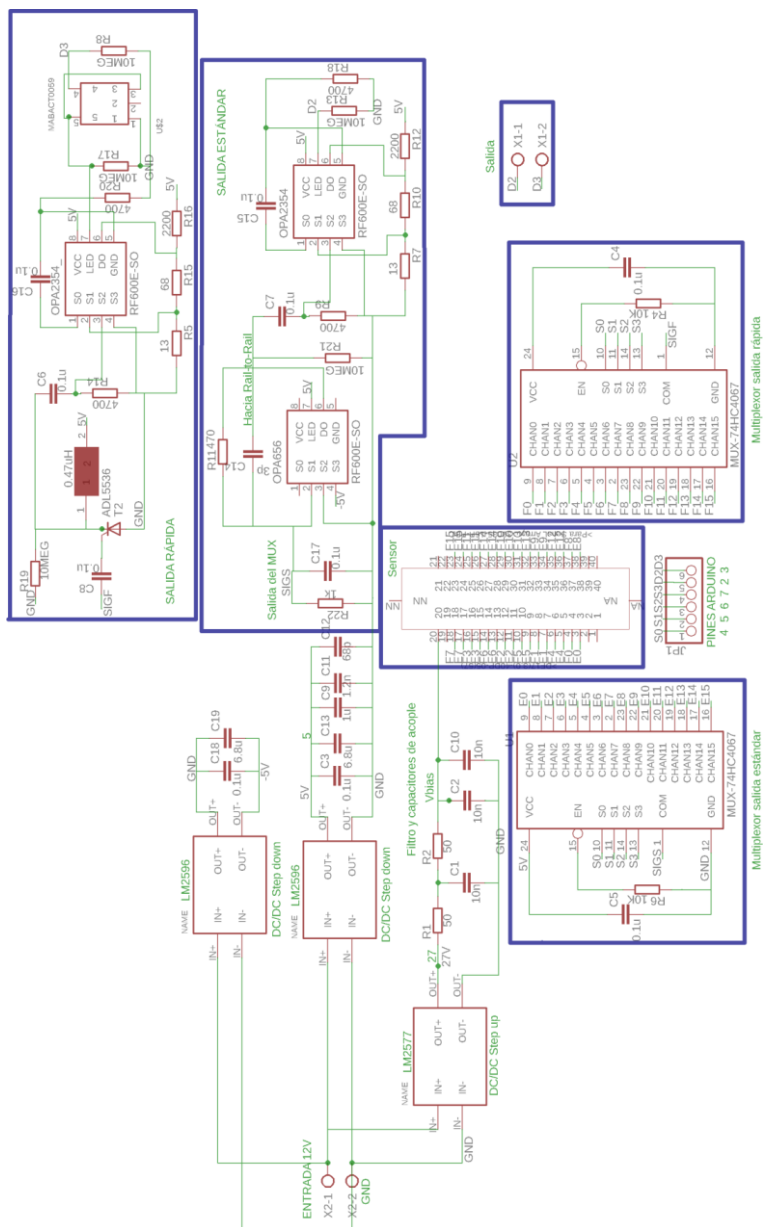


Figura B.2 Versión final de integración propuesta con salida rápida y estándar instrumentadas y con MUX. La salida rápida permite aumentar la capacidad del sensor para contar los fotones.

Apéndice C

Códigos de programación

C.1 Código para ARDUINO para medida de CPS con el array SiPM

```
#define S0 4
#define S1 5
#define S2 6
#define S3 7
#include <Wire.h>
const byte interruptPin = 2;
volatile unsigned long pulsos=0;
long previousMillis=0;
int i=0;
int tiempo=1000; //Para disminuir tiempo de escucha cambiar esta
    variable
volatile unsigned long pulsosm=0;
int mux=0;
unsigned long infinito=0;
//portMUX_TYPE mux = portMUX_INITIALIZER_UNLOCKED;
void handleInterrupt() {
    //void IRAM_ATTR handleInterrupt() {
        //portENTER_CRITICAL_ISR(&mux);
        pulsos++;
        pulsosm++;
        //portEXIT_CRITICAL_ISR(&mux);
    }
void setup() {
    Serial.begin(115200);
    //Serial.println("Monitoring interrupts: ");
```

```

    pinMode(interruptPin, INPUT_PULLUP);
    attachInterrupt(digitalPinToInterrupt(interruptPin),
        handleInterrupt, RISING);

pinMode(11, OUTPUT);
pinMode(S0, OUTPUT);
pinMode(S1, OUTPUT);
pinMode(S2, OUTPUT);
pinMode(S3, OUTPUT);
actuamux(mux);
}
void loop() {
    analogWrite(11, 64);
    unsigned long currentMillis=millis();
    if(currentMillis-previousMillis>tiempo){
        previousMillis=currentMillis;
        //Serial.println(pulsos);
        infinito++;
        Serial.print(mux);Serial.print(","); Serial.print(pulsos);
        Serial.print(","); Serial.println(infinito);
        pulsos=0;
        if(mux<15){
            mux++;
        }
        else mux=0;
        actuamux(mux);
        //pulsosm=0;
        //Serial.write(pulsos);
    }
}
void actuamux(int c){
    digitalWrite(S0, HIGH && (c & B00000001));
    digitalWrite(S1, HIGH && (c & B00000010));
    digitalWrite(S2, HIGH && (c & B00000100));
    digitalWrite(S3, HIGH && (c & B00001000));
}

```

C.2 Código en MATLAB para análisis de datos

```

function fluorheatmap(prueba1)
posx=[ 1 2 3 4 1 2 3 4 1 2 3 4 1 2 3 4 ];
posy=[ 1 1 1 1 2 2 2 2 3 3 3 3 4 4 4 4 ];
M=csvread(prueba1);

```

```
medidatotal=zeros(4,4);
medias=zeros(4,4);
cnt=zeros(4,4);
for row=1:size(M,1)
    sens=M(row,1);
    medida=M(row,2);
    coordx=posx(sens+1);
    coordy=posy(sens+1);
    medidatotal(coordx,coordy)=medidatotal(coordx,coordy)+medida;
    cnt(coordx,coordy)=cnt(coordx,coordy)+1;
end
for i=1:4
    for j=1:4
        media(i,j)=medidatotal(i,j)/cnt(i,j);
    end
end
colormap('jet');
im=imagesc(media);
colorbar;
```

C.3 Código en LabView

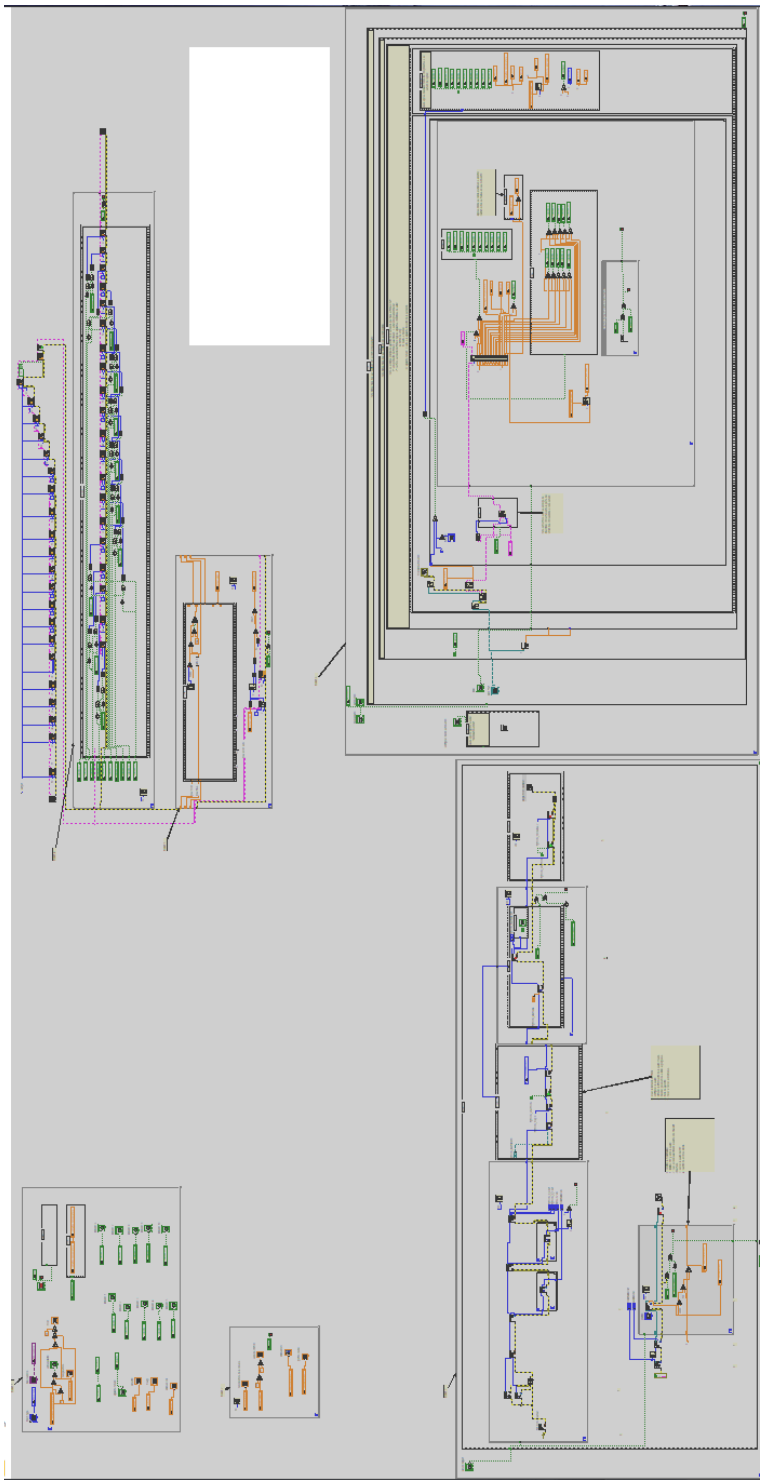


Figura C.1 Código en LabView para el panel frontal.



Figura C.2 Código en LabView para el modo automático.

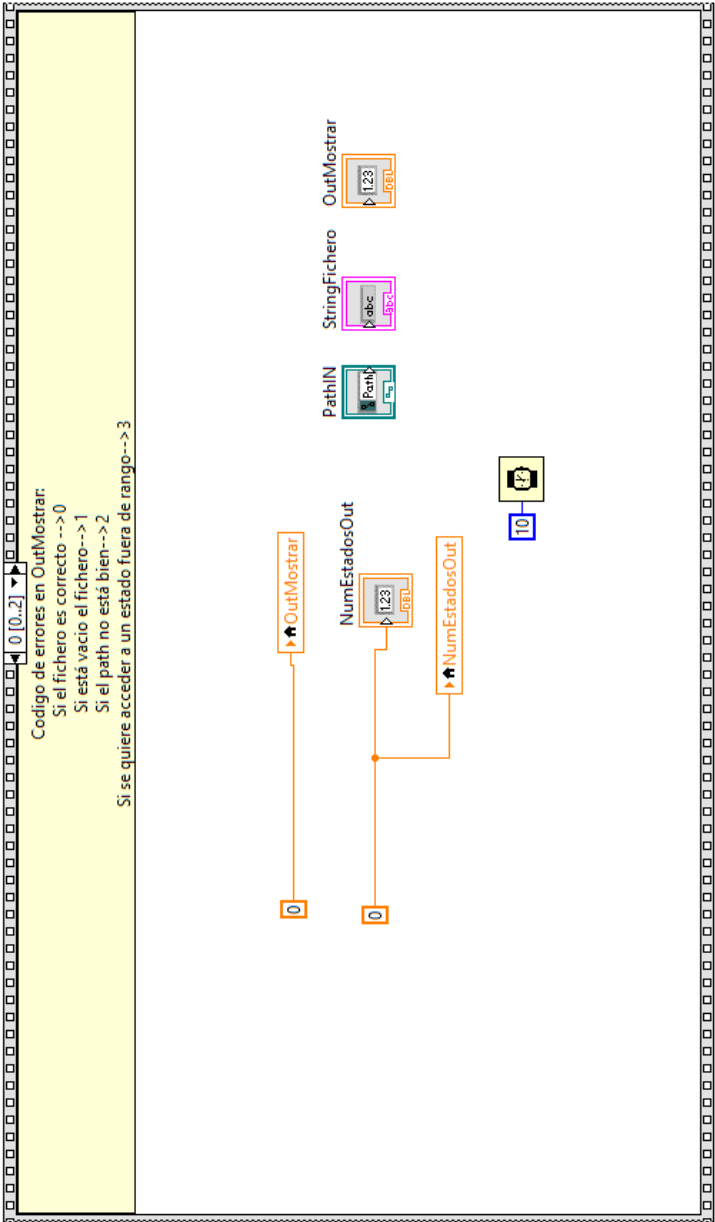


Figura C.3 Código en LabView para comprobar el fichero.

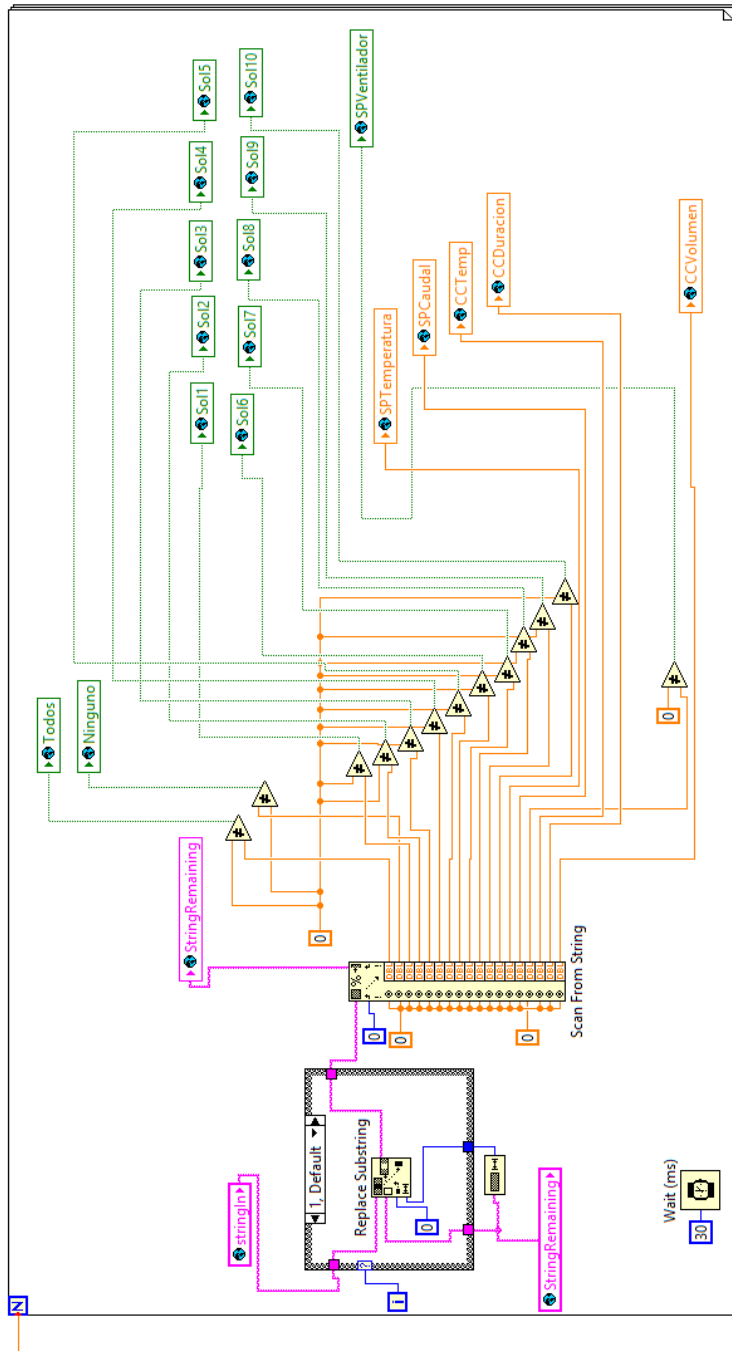


Figura C.4 Código en LabView para leer el estado.

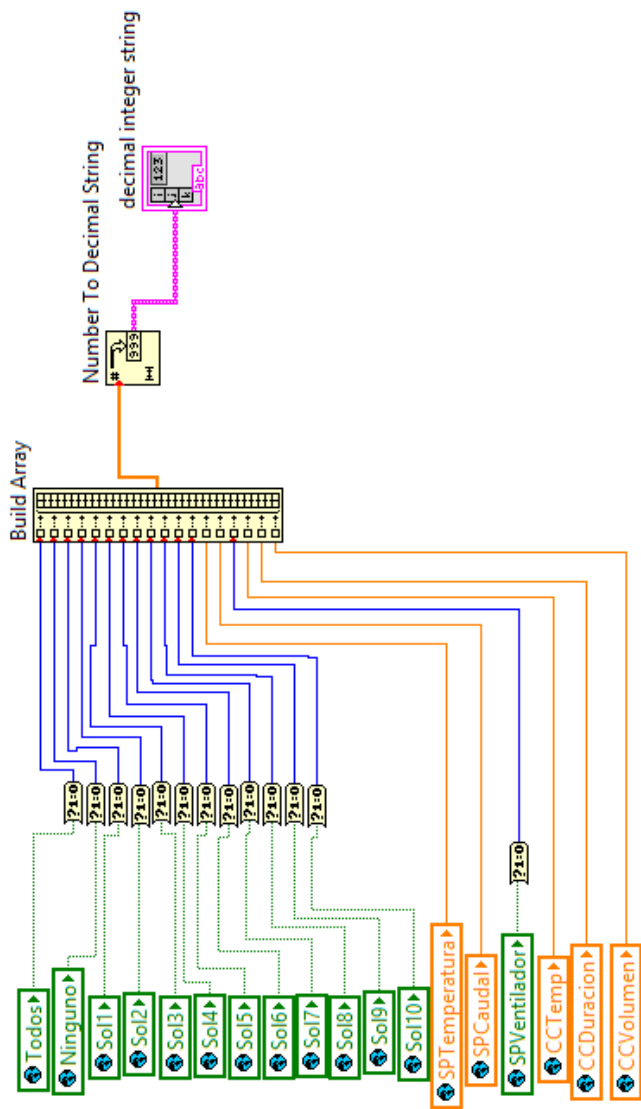


Figura C.5 Código en LabView para escribir el estado.

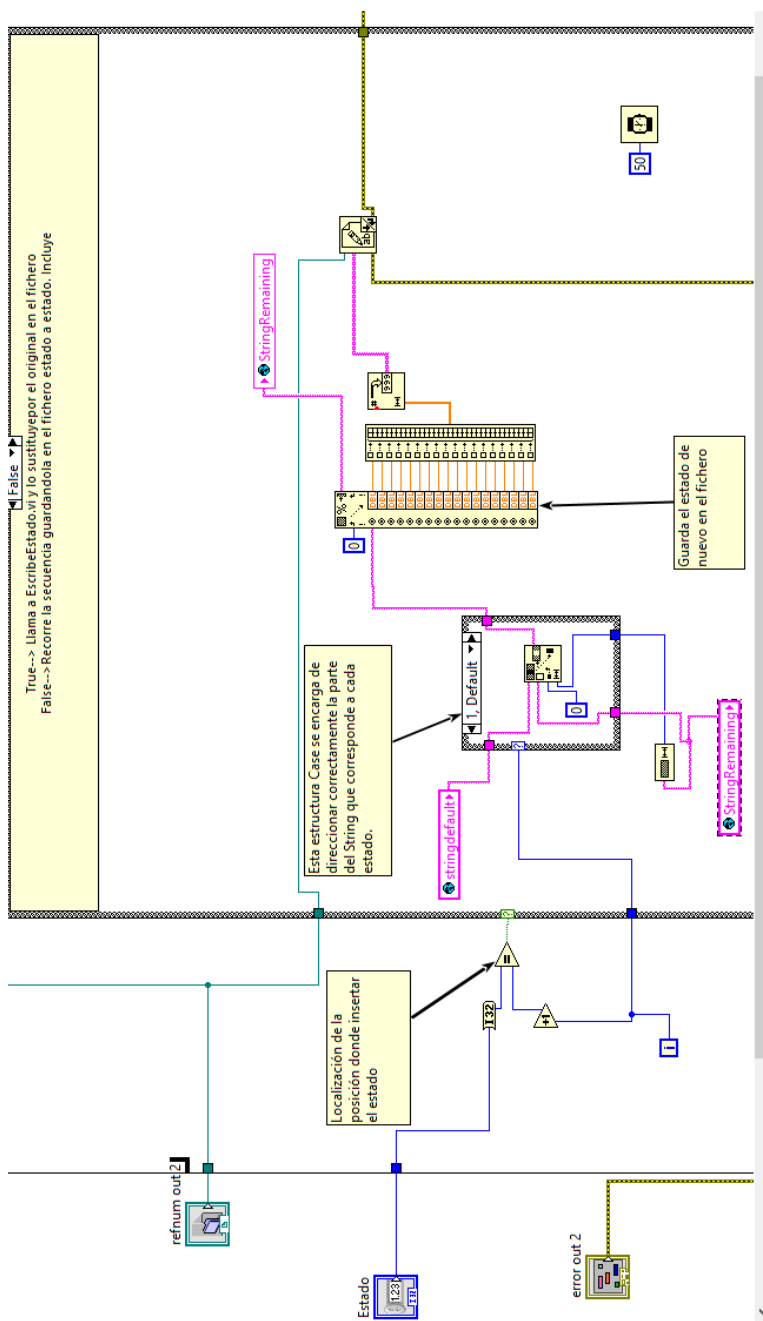


Figura C.6 Código en LabView para modificar un estado.

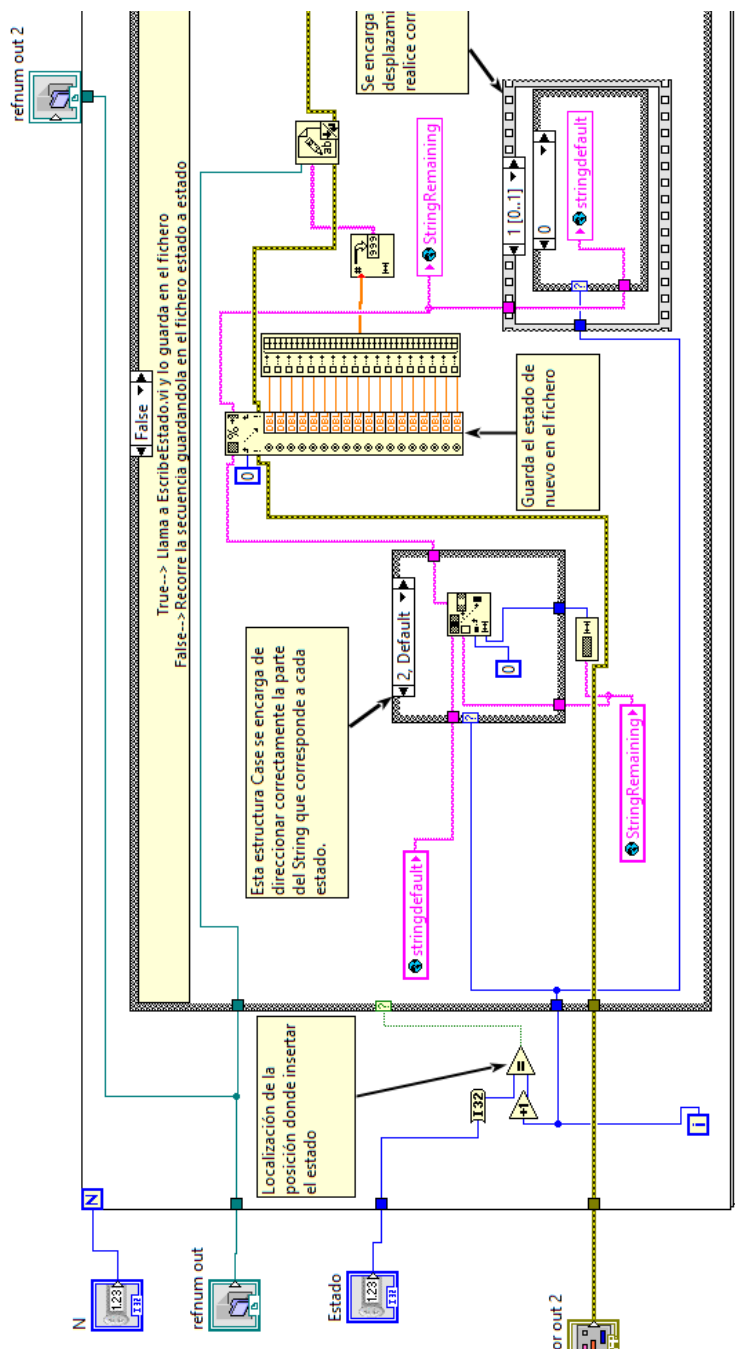


Figura C.7 Código en LabView para insertar estado.

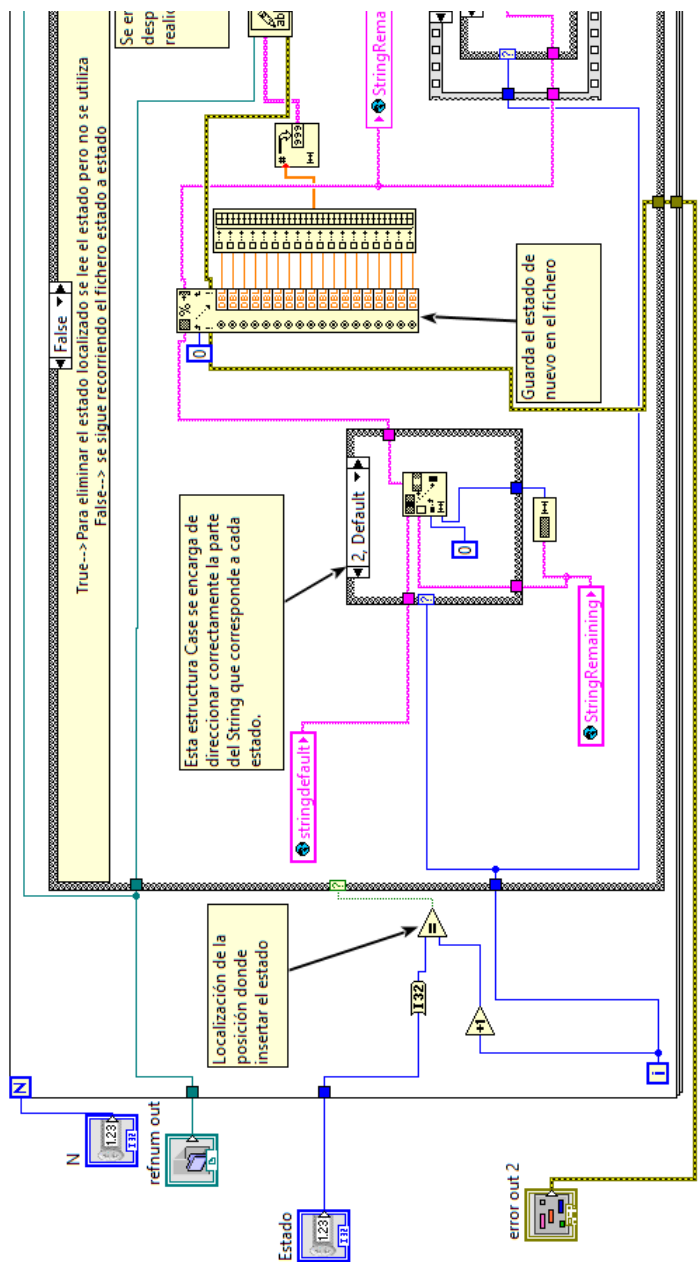


Figura C.8 Código en LabView para borrar estado.

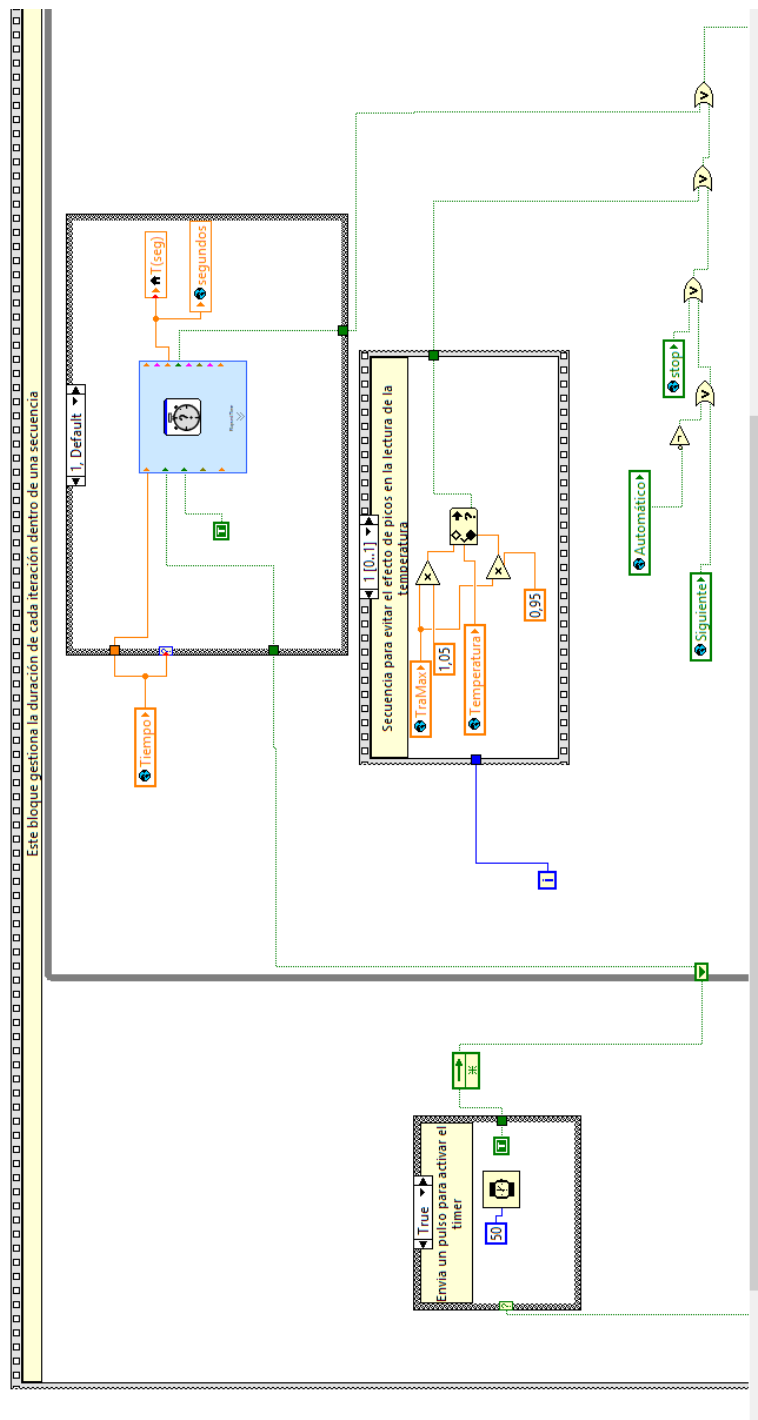


Figura C.9 Código en LabView para las condiciones de cambio (parte 1).

Apéndice D

Máscaras y planos

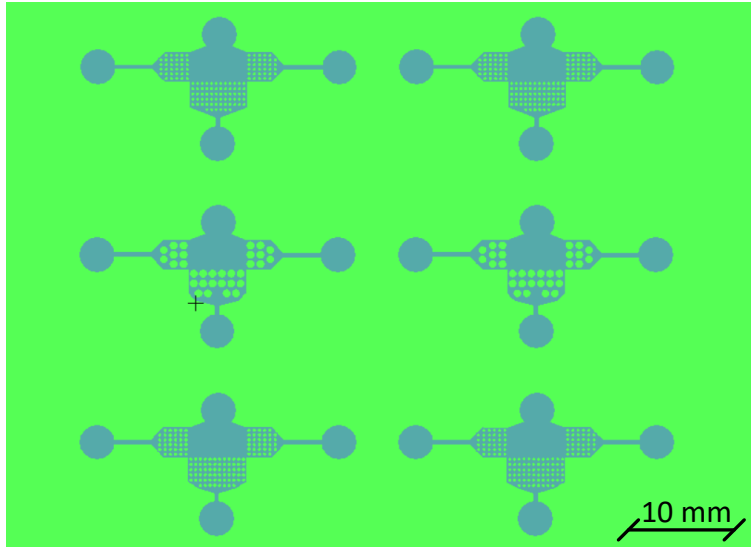


Figura D.1 Máscaras para las primeras cámaras de intercambio iónico con filtros de columnas de PDMS.

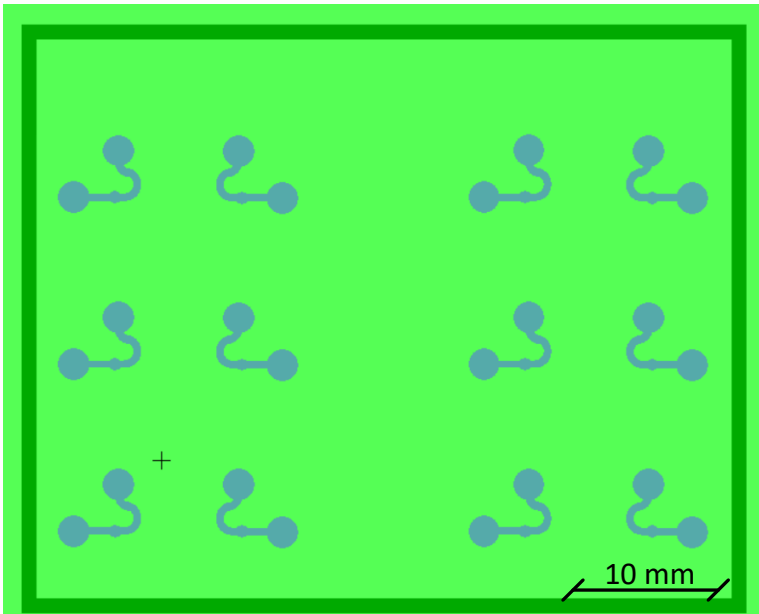


Figura D.2 Máscaras para las pruebas con las cámaras de intercambio iónico.

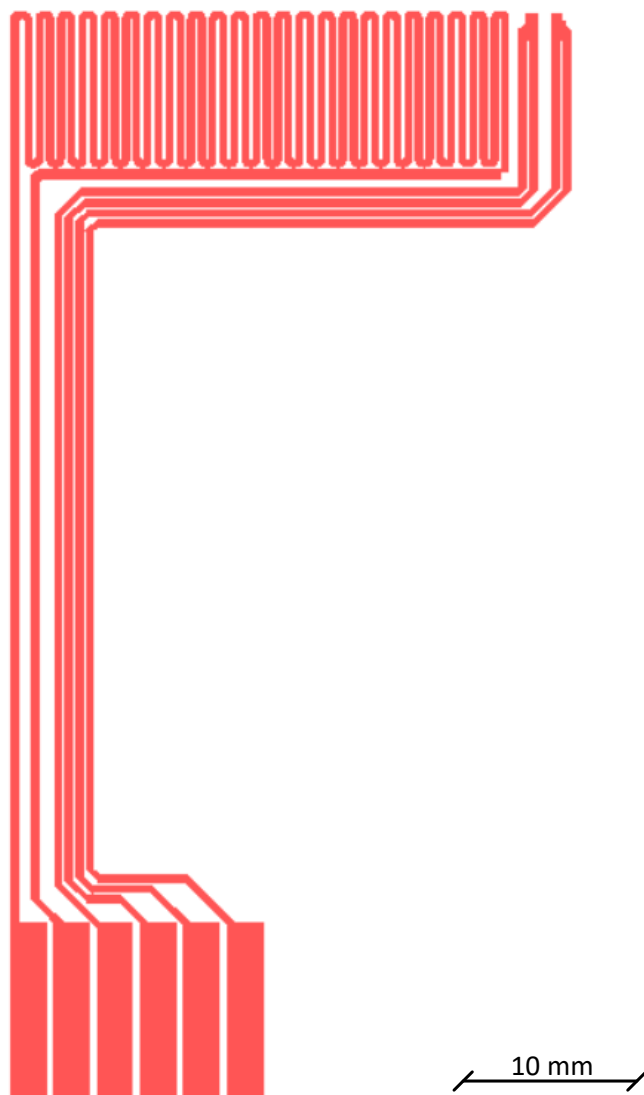


Figura D.3 Máscaras para el calentador empleado.

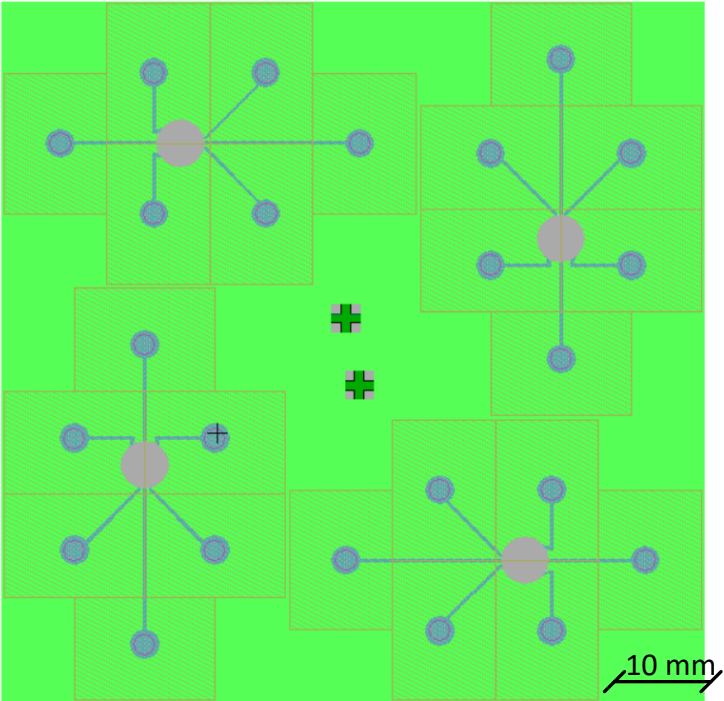


Figura D.4 Máscaras para uno de los primeros prototipos del chip microfluídico.

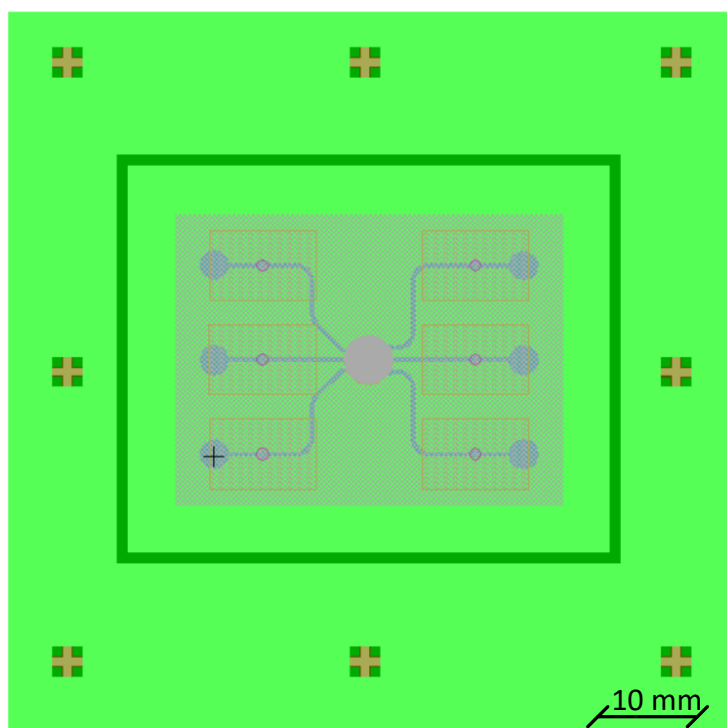


Figura D.5 Máscaras para otro de los primeros prototipos del chip microfluídico.

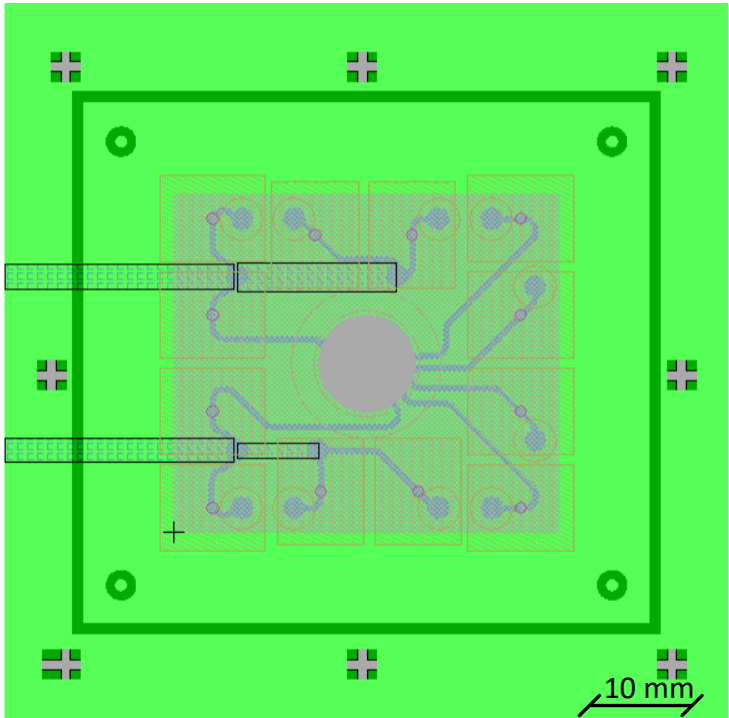
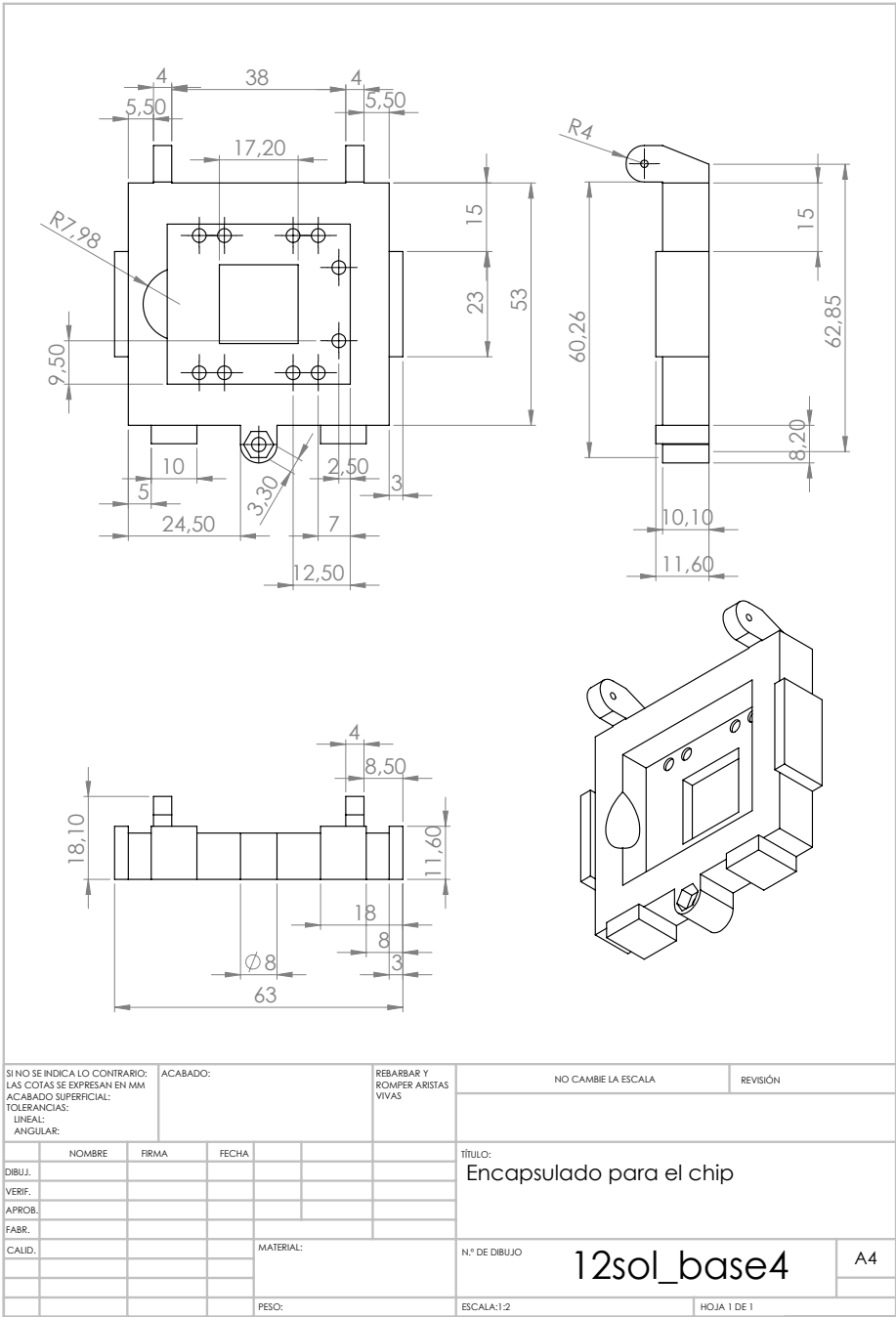
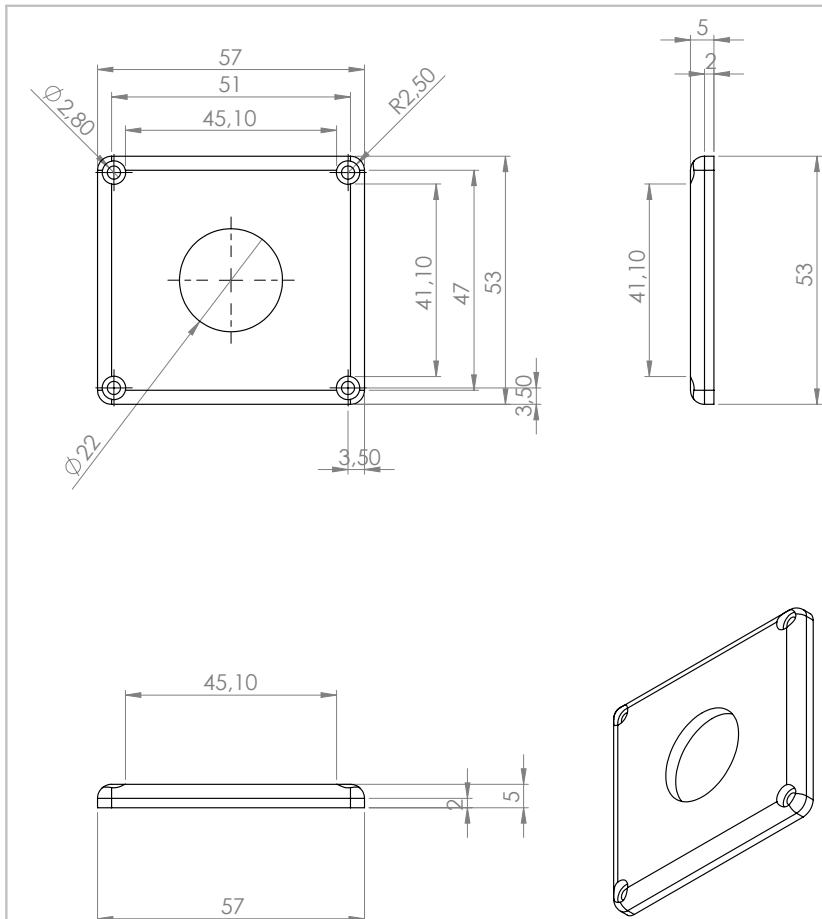
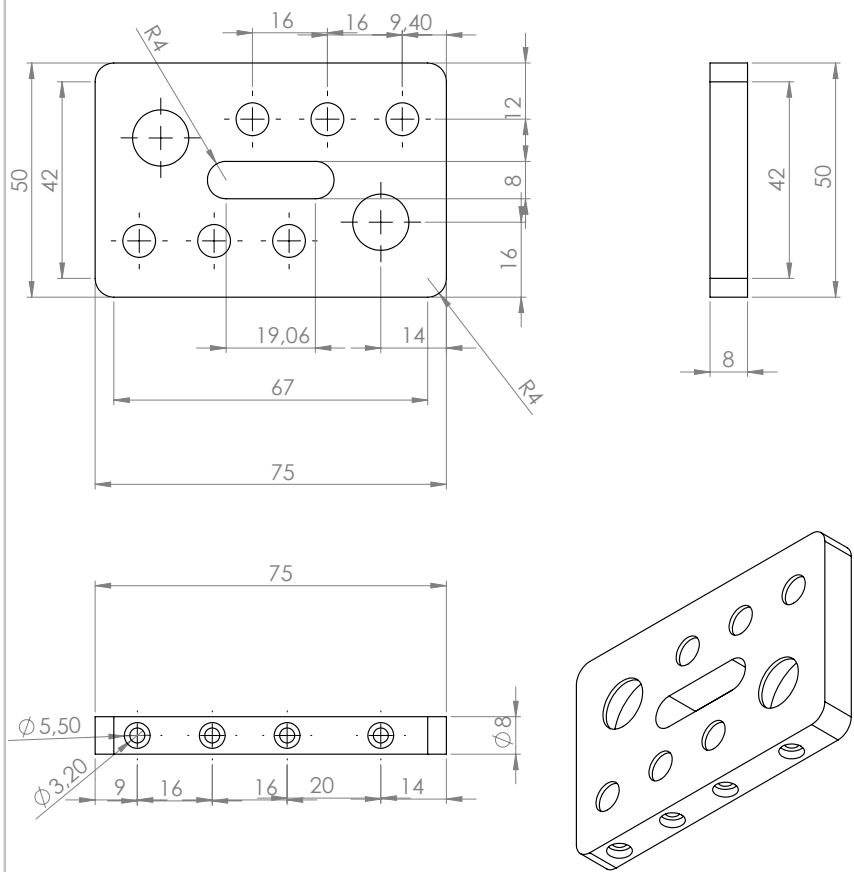


Figura D.6 Máscaras para el prototipo final del chip microfluídico.





SI NO SE INDICA LO CONTRARIO: LAS COTAS SE EXPRESAN EN MM ACABADO SUPERFICIAL: TOLERANCIAS: LINEAL: ANGULAR:				ACABADO:		REBARBAR Y ROMPER ARISTAS VIVAS		NO CAMBIE LA ESCALA		REVISIÓN		
								título:				
								Tapadera encapsulado				
DIBUJ.	NOMBRE	FIRMA	FECHA									
VERIF.												
APROB.												
FABR.												
CALID.				MATERIAL:								
			PESO:	ESCALA: 1:1				HOJA 1 DE 1				
								N.º DE DIBUJO				A4
								tapa2				



SI NO SE INDICA LO CONTRARIO: LAS COTAS SE EXPRESAN EN MM ACABADO SUPERFICIAL: TOLERANCIAS: LINEAL: ANGULAR:			ACABADO:			REBARBAR Y ROMPER ARISTAS VIVAS			NO CAMBIE LA ESCALA		REVISIÓN
DIBUJ.	NOMBRE	FIRMA	FECHA						TÍTULO: Soporte para 8 viales		
VERIF.											
APROB.									N.º DE DIBUJO 8modulos_V2		
FABR.											
CAID.									A4		
									ESCALA:1:2		
									HOJA 1 DE 1		

Apéndice E

Publicaciones

Monitoring of microfluidics systems for PET radiopharmaceutical synthesis using integrated silicon photomultipliers

Blas Salvador, Diego Escalante, Laura Fernandez-Maza, Ariadna Corral,
Sergio Camacho-Leon, *Senior Member, IEEE*, Antonio Luque, *Senior Member, IEEE*

Abstract—Silicon photomultipliers (SiPM) can be used to sense the position and movement of the radioactive reagents involved in the synthesis of radiopharmaceuticals, while providing information on the evolution through the different steps of this synthesis. An SiPM array can be placed next to a lab-on-chip substrate made of PDMS and is able to detect particles emitted by ^{18}F , the radioisotope used in fluorine-based positron-emission tomography (PET) imaging. In this research, an array of 16 SiPM sensors is used to monitor the synthesis of [^{18}F]-based radiopharmaceuticals. Results prove that it is possible to measure the position of the radioactive sample with adequate spatial and temporal resolution.

Index Terms—PET, radiopharmacy, PDMS, SiPM

I. INTRODUCTION

MEDICAL diagnostic imaging techniques that employ positron-emission tomography (PET) are among the most widely used worldwide. In PET, a radiotracer is injected into the patient body and the positrons it emits are later detected and localized. Different radiotracers can be produced by chemically synthesizing them with varying medical properties to locate different pathologies in the patient. The synthesis process typically involves the generation of a radionuclide that is afterwards processed through several physical and chemical steps until the final radiopharmaceutical is delivered. Radiochemical yields are usually low in PET research radiopharmaceuticals, since a large amount of the radionuclide originally produced is wasted in the process.

Performing these steps inside of microfluidic chips is one of the solutions that are being developed in order to increase efficiency, reduce waste and save on shielding costs. Many microfluidic systems that can produce usable radiotracers have been presented [1]–[3].

One of the main difficulties in designing and operating these systems is the lack of monitoring

and control capabilities. Although the process is stable and relatively well-known, precise measurement of process variables is difficult to achieve. For example, heating and temperature sensing have been integrated into synthesis devices [4] but measurement of flow rates is usually not possible. The most significant variable in the process would be the radioactivity of the samples at different steps and locations within the chip, as this can indirectly serve as measurement of flow rates, synthesis rate or presence of unreacted components. Consequently, the integration of a radioactivity with high spacial resolution would increase the precision of the whole process.

One class of sensors that have recently received much attention are silicon photomultipliers (SiPM) [5], which are semiconductor-based photodetectors that are able to timely detect even low-light signals, down to single photon counting. SiPM are an integrable alternative to traditional photomultiplier tubes. Their high efficiency in photon detection together with their fast response [6] make them ideal candidates for demanding applications such as astrophysics or medical imaging.

Silicon photomultipliers have been successfully used as detectors in PET imaging systems [7]–[13]. Single annihilation photons produced by the interaction of the positrons emitted by the radionuclide can be detected by the SiPM [14]–[17].

The work presented here aims to demonstrate the use of SiPM for monitoring the synthesis of radiopharmaceuticals in microfluidic chips. It will be shown how an array of SiPM devices can provide information of the progress of the synthesis steps in a non-invasive way and without the need of placing sensors in the microfluidic chip itself, facilitating its later disposal.

The rest of the paper is organized as follows.

Does PDMS really interact with [^{18}F]fluoride? Applications in microfluidic reactors for ^{18}F -radiopharmaceuticals.

Fernandez-Maza, Laura ^{* 1}, Salvador, Blas², Orta, Diana¹, Corral, Ariadna¹, Luque, Antonio².

1. Centro Nacional de Aceleradores. Universidad de Sevilla, CSIC, Junta de Andalucía. Seville. Spain.
2. Departamento de Ingeniería Electrónica. Escuela Técnica Superior de Ingeniería. Universidad de Sevilla. Spain.

* **Corresponding author:** Laura Fernandez Maza. Centro Nacional de Aceleradores. Universidad de Sevilla, CSIC, Junta de Andalucía. Thomas Alva Edison 7. 41092 Seville. Spain.

Tel. +34 954 460 553, Fax: +34 954 460 145, email: lfmaza@us.es

Abstract

Microfluidic devices for positron emission tomography (PET) radiopharmaceuticals present increasing interest for dose on demand, mainly at centers with no cyclotron facilities. Polydimethylsiloxane (PDMS) is a cheap and easily available material for microfluidic devices. Bibliography refers interactions of this material with [^{18}F]fluoride. Some authors discard PDMS because of this, while others suggest the use of fluoropolymer thin films coating to reduce [^{18}F]fluoride adsorption. The aim of this work was to evaluate [^{18}F]fluoride retention and elution in a PDMS reactor chamber, without further treatment, when it is under heating and vacuum normal conditions used for fluorine-18 radiosynthesis steps, in a range of radioactivity that allows to obtain doses for two or three patients. Under these conditions, we found that [^{18}F]fluoride was practically not adsorbed to PDMS, and almost completely eluted with water for injection, which makes PDMS suitable for usual fluorine-18 radiochemistry steps, even without further coatings, for radiopharmaceuticals preparation in single-use lab-on-chips.

Key words: radiopharmaceuticals, lab on chip, PDMS, microfluidics, fluorine-18.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge the support of Andalusian Government, project TIC 2296 "Microlab-en-chip para producción de radiofarmacos para diagnóstico PET". Proyectos de Excelencia Junta de Andalucía, 2014, and the support of Siemens Healthineers and Curium Pharma.

1. Introduction

Positron emission tomography (PET) is an in vivo molecular imaging technique based in the detection of



Contents lists available at ScienceDirect

Microelectronic Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mee

Research paper

Fabrication method of lab-on-PCB devices using a microheater with a thermo-mechanical barrier

Emilio Franco*, Blas Salvador, Francisco Perdignes, Miguel Cabello, José Manuel Quero

University of Seville, Avda de los Descubrimientos s/n, 41092, Spain



ARTICLE INFO

Article history:
Received 4 November 2017
Received in revised form 27 December 2017
Accepted 17 February 2018
Available online 23 February 2018

Keywords:
Lab-on-PCB
Thermal bonding
Microfluidics
Thermoplastics
Thermo-mechanical barrier

ABSTRACT

A thermal method for bonding thermoplastics with a printed circuit board has been developed for its use in Lab on Chip applications. In order to define and control the bonded zones of the device, a thermo-mechanical barrier is included. The thermoplastic used is polymethylmethacrylate (PMMA), and the substrate is a double-side PCB. The copper layer is used to fabricate simultaneously a microheater and the thermo-mechanical barrier by wet etching, and the piece of PMMA used is micromilled before its bonding to the PCB. Once the PCB and the piece of PMMA are processed, a good alignment of both parts is important. After that, a controlled current is applied by a power supply in order to increase the temperature of the microheater. Time needed for bonding is predicted by numerical simulations of the whole system. As an example of a possible application of this procedure, the proposed method is applied to fabricate a two-dimensional hydrodynamic focusing device. This device has been tested showing an appropriate behaviour. The dimensions of the generated streams lie between 81 and 224 μm showing a good correspondence with the theory. In addition, the device presents a correct functioning, without leakages demonstrating that the bonding is good. The presented method has been studied in order to characterize the maximum pressure the whole device is able to withstand. In this case, the materials used withstand 481 kPa. This method can be easily extended to industrial production of microfluidic devices, such as lab on chips and μTAS .

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The microfluidic field was born several decades ago, and, nowadays, it continues being an important source of research. Currently, microfluidics has an interesting potential of development. This field, together with different areas, has provided important and successful solutions for many problems. For instance, the development of Lab on Chip (LOC) devices [1, 2]. These devices mean the miniaturization of conventional laboratories and processes in small platforms with the size of a credit card, for example in drug discovery [3]. In case of using PCB as substrate, those devices are called Lab-on-PCB (LOP) devices [4]. The generation of droplets and microcapsules [5, 6] are other examples in which microfluidics contributes with its characteristics. In addition, biology has taken advantage of this important field to improve several applications [7], in particular microfluidics for assisted reproduction [8, 9]. These are only a few examples among a huge field of applications.

Microfluidic devices have been developed by many research groups. The first steps of the development of a device are the fabrication and evaluation of it as a proof of concept. Thus, rapid prototyping has been used. This technique involves the use of low cost materials and facilities in order to fabricate the device. In general, the fabrication process used for carrying out microfluidic LOC's can not be extended for industrial production. For example, many rapid prototyping microfluidic systems are fabricated using the photoresist SU-8 [10]. The typical process for this material requires, among others, the steps of deposition and spin coating. These steps are a good choice for rapid prototyping but are difficult to extend for industrial production due to dimensions of microfluidic devices. Soft lithography technique of polydimethylsiloxane (PDMS) is also used in the fabrication process of this type of devices [11, 12]. Two components have to be mixed to obtain the PDMS material. Then the mixture has to be degassed. In addition, controlled baking steps are necessary for the cure of this kind of silicone. Both materials, SU-8 and PDMS, are supplied in liquid state and then have to be solidified, the first one by UV light exposure and temperature, and the second one by temperature. Furthermore, this typical process implies a big amount of waste of material during the spin coating step for SU-8, and the pouring of PDMS on the mold. All these issues can be solved by using a polymeric solid material to be processed by hot

* Corresponding author.
E-mail address: efranco@us.es (E. Franco).

Highly Integrable Microfluidic Impulsion System for Precise Displacement of Liquids on Lab on PCBs

Francisco Perdigones¹, Emilio Franco, Blas Salvador², Guadalupe Flores,
and José Manuel Quero, *Senior Member, IEEE*

Abstract—In this paper, an impulsion system for laboratory on printed circuit board (LOP) is described. The proposed system is intended to place the working liquids in a designed location of the LOP. The system is composed of a pressurization system, a microvalve, and a damping chamber. All these parts have been integrated in a microfluidic system to test the behavior of the whole system. The pressurization system allows the storage of mechanical energy to impulse liquids samples. The microvalve releases the pressure of the commented pressurization system toward the damping chamber. The blast wave effect of the microvalve opening has to be dampened. In this regard, the function of the damping chamber is to reduce the effects of the microvalve activation, resulting in good behavior. The materials used for fabricating the device are polymethylmethacrylate and printed circuit board. These materials and the fabrication process can be considered as mass production. The fabricated devices impulse 32.5 μL during about 24s, and 21.3 μL during 10 s, for the proposed microfluidic configurations. The errors for those impulsions are 5.3% and 6.5%, respectively. Finally, the experimental results and simulations show a good behavior of the system regarding liquid placement and time response. [2017-0293]

Index Terms—Lab on PCB, impulsion system, microfluidics.

I. INTRODUCTION

THE control of volume of fluids is an important issue in microfluidics, particularly on lab on chip (LOC) and lab on printed circuit board, also named lab on PCB (LOP) [1]. The development of LOCs started to increase in the past decades and continues due to its application in many fields, especially on biomedicine and environment [2]–[6].

The improvement of the components of the LOCs helps to increase the performance and reliability of the whole microfluidic platform. When talking about the control of volume of fluids, the most important components in many LOCs are the impulsion systems. The development of LOPs is recent

if compared with LOCs. Lab on PCBs are characterized by the use of PCBs together with other materials to fabricate the microfluidic platform and devices [7]–[10]. The substrate used in LOPs is the Flame Retardant-4 (FR4) layer of the PCB. The copper layer is used as a structural material, as electronic connections of the device, and to perform sensors and actuators, for example, pressure sensors [11], [12], flow sensors [13], [14], electrodes [15] and microvalves [16]–[18]. Many LOPs devices and platforms are fabricated using rapid prototyping materials, for example PDMS [19] and SU-8 [16]–[18]. These materials are difficult to include in a fabrication process for industrial production due to the typical processes and facilities used for this task. In this respect, other plastic materials are used in MEMS [20]. These materials can be micromachined using mass production processes. The LOPs are based on these materials and PCBs. The plastic materials are used to fabricate the microfluidic circuit, and the PCB substrate is processed by wet etching to develop the electrical connections, sensors and actuators. Then, the plastic material has to be bonded to the PCB substrate in order to fabricate the buried channels and chambers. Nowadays, there are not highly integrable impulsion systems for mass production of LOP platforms.

There are many methods of impulsion for Lab on Chip applications, for example, the use of a generation of electrolytic gas to achieve a precise control of samples. In this particular case, a power source, a liquid solution and two electrodes are the necessary components to perform the reaction to generate the electrolytic gas [21]. Digital microfluidics is a sample-handling technology that controls droplets with volumes from pL to μL on an array of electrodes [22]. Surface acoustic waves have been used for many applications, especially for radio frequency communication, chemical and biochemical sensing, and optical modulators. The principle of working of this kind of devices is based on the use of the piezoelectric behavior of certain materials, for example, zinc oxide (ZnO) or crystal lithium niobate (LiNbO_3) to convert the electric energy to mechanical energy in the form of surface acoustic waves [23]. Finally, pressurized chambers can be used as energy reservoirs to impulse liquid samples. The principle of working is based on the opening of a microvalve to release a pressurized gas stored in a chamber. The releasing of the stored gas causes the transport of the microfluidic samples until the balance of pressure is achieved [16], [24]. These methods are

Manuscript received December 5, 2017; revised February 26, 2018; accepted March 24, 2018. Date of publication April 27, 2018; date of current version May 31, 2018. This work was supported by the Spanish Ministry of Science and Innovation under Grant TEC2014-54449-C3-2-R. Subject Editor D. DeVoe. (Corresponding author: Blas Salvador.)

The authors are with the Departamento de Ingeniería Electrónica, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, University of Seville, 41092 Sevilla, Spain (e-mail: perdi@zipsi.us.es; efranco@us.es; bsalvador@us.es; gtflores@zipsi.us.es; quero@us.es).

Color versions of one or more of the figures in this paper are available online at <http://ieeexplore.ieee.org>.

Digital Object Identifier 10.1109/JMEMS.2018.2821187

1057-7157 © 2018 IEEE. Personal use is permitted, but republication/redistribution requires IEEE permission.

See http://www.ieee.org/publications_standards/publications/rights/index.html for more information.

Bonding process using integrated electrothermal actuators for microfluidic circuit fabrication

Emilio Franco, Francisco Perdígones[✉], Blas Salvador[✉] and José Manuel Quero

University of Seville, Avda de los Descubrimientos sn, 41092, Seville, Spain

E-mail: perdi@zipi.us.es

Received 2 February 2018, revised 13 March 2018

Accepted for publication 29 March 2018

Published 17 April 2018



Abstract

In this paper, the fabrication of plastic microfluidic circuits using integrated electrothermal actuators is described. The materials used to do this task are aluminium, biocompatible glue and polymethylmethacrylate (PMMA). These materials are processed to integrate electrothermal actuators on transparent and biocompatible PCB-like substrates. The actuators reach a temperature between the glass transition temperature and the melting point of the PMMA in order to perform the bonding. The PCB-like substrate allows the integration of additional circuitry if required. The proposed method of fabrication guarantees transparent devices. To do this task, the facilities are not expensive, and allow industrial production because many devices can be assembled at the same time. Finally, the proposed method is checked. In order to do so, a T-junction microfluidic circuit for bubbles generation is fabricated. The microchannels have a width of 600 μm and a height of 1300 μm . The generation of bubbles was tested with successful results and good correspondence with the theoretical behaviour. Leakages were not observed during experiments, demonstrating the feasibility of the bonding method for fabricating microfluidic devices using thermoplastics materials.

Keywords: lab on chip, bonding process, thermoplastic

(Some figures may appear in colour only in the online journal)

1. Introduction

Nowadays the microfluidic devices field is the center of attention of many research areas. The synergy of microfluidic circuits and a specific research area means a multidisciplinary field which provides useful solutions for many problems. For instance, the developments of lab on chip (LOC) devices reported on [1–3] are very representative examples. Generally, the microfluidic devices have to fulfil many demanding requirements, for example, transparency and biocompatibility.

The LOC devices fabricated using printed circuit board (PCB) substrates are named lab-on-PCB (LOP) devices. The development of these devices is very incipient, and their market introduction is being carried out using commercial PCBs [4]. However, many often, the development of

microfluidic devices using commercial PCBs is not optimal. The main drawbacks are the lack of biocompatibility due to the use of copper, and their opacity for optical applications. Regarding the fabrication, the most important difficulty is the assembly of the PCB substrate with a cover to achieve buried microchannels and chambers. There are several methods to do so, for example, the use of double side tapes [5–7] or glue [8, 9]. Regarding the biocompatibility, transparency and low cost, a combination of polymethylmethacrylate (PMMA) and aluminium has been reported as PCB-like substrate [9]. This transparent and biocompatible substrate represents the link between PCBs and the most commonly used materials for microfluidic fabrication, that is, polymethylmethacrylate, polycarbonate (PC), polyethylene terephthalate (PET) and cyclic olefin copolymer (COC) [10]. In this case, the bonding



Contents lists available at ScienceDirect

Microelectronic Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mee

Research paper

Fabrication process for inexpensive, biocompatible and transparent PCBs. Application to a flow meter

Blas Salvador^{*}, Emilio Franco, Francisco Perdigones, José M. Quero

Dpto. Ingeniería Electrónica, Universidad de Sevilla, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 16 February 2017

Accepted 17 March 2017

Available online 23 March 2017

Keywords:

Printed circuit board

Transparent

Biocompatible

Optical

ABSTRACT

The requirements of the Printed Circuit Boards (PCBs) are gradually more demanding due to the advances on the technology of many fields. Some of these requirements are biocompatibility and transparency for biological/biomedical applications. In this paper, the fabrication of inexpensive, biocompatible and transparent substrate for rapid prototyping is reported. This substrate is intended to be used as PCB because of their similarities. It is composed of polymethylmetacrylate (PMMA) as substrate, aluminum (Al) as conductive material and a light cure acrylic biocompatible adhesive to perform the bonding between the aluminum and the substrate. In addition, a solder mask layer of the same adhesive is performed to cover the aluminum tracks. The process is easy to perform and inexpensive if taking into account the used materials and the facilities. In this respect, a conventional UV light source is needed. Taking into account these requirements, a rapid prototyping of a PCB-based flow meter is developed as an example of application. This flow meter is fabricated using the proposed PCB substrate. This device is intended to be integrated on transparent and rapid prototyping lab on chip devices for biomedical applications. This integration implies the compatibility of this flow meter with optical sensing of biological samples. The flow sensor is composed of a microheater with a range of temperature from room temperature up to 100 °C. The fabricated microheater is used as PTC resistor to develop the highly integrated flow sensor. The proposed device has a sensitivity of 450 $\mu\text{V}/(\mu\text{L}/\text{min})$ and a normalized sensitivity of 450 $\text{ppm}/(\mu\text{L}/\text{min})$ for a driven current of 0.6 A. The range of flow rate of the fabricated device lies between 0 and 450 $\mu\text{L}/\text{min}$.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Regarding the Printed Circuit Board (PCB) as material for fabricating devices, the technology is well-established for the fabrication of electronics devices. Although commercial PCBs are typically composed by flame-retardant-4 (FR4) as substrate and copper (Cu) as metal layer, several materials are used as substrate, for example, aluminum for heat dissipation, polyimide and PET for flexible applications [1] and high glass transition temperature, hydrocarbon/ceramics-based materials for high frequency devices and paper [2]. Regarding the metals, an additional layer of gold is used, among others, to avoid oxidation, but there is not a high variety of materials. Usually, the manufacturer of the PCB allows the deposition of a resist layer which covers the substrate, except over the contact pads, in order to protect the metal tracks previously fabricated.

The use of PCBs in fields different than typical electronic applications has grown in relevance during the last decades. For example,

the development of microfluidic platforms [3–6], the integration of sensors and actuators on microfluidic applications, for instance, Ag/AgCl electrodes [7], micropumps [8], microheaters and temperature sensors [9], and microvalves [10]. Nowadays, the requirements of the PCBs are gradually more demanding due to the advances on the technology of many fields. Some of these requirements are biocompatibility for biological/biomedical applications [11] and transparency for optical applications [12,13]. In addition, the low cost of the device is important for the fabrication of inexpensive rapid prototyping devices.

The development of biocompatible PCBs requires the replacement of the typical copper layer, since it is a non-biocompatible material. The materials to replace the copper can be, for example, aluminum, gold and titanium [11]. Regarding the substrate, many materials can be chosen, for example, among others, polymethylmetacrylate (PMMA), polyethylene terephthalate (PET), polyimide and cyclic olefin copolymer (COC) as plastic materials and glass as non-plastic one. All of them are transparent materials except the polyimide which is slightly yellowish. Generally, the adhesion of the FR4 substrate and copper is a epoxy-base complex process [14]. In the case of non-commercial PCBs the typical method to bond

^{*} Corresponding author.
E-mail address: bsalvador@us.es (B. Salvador).

Disposable PDMS Chip With Integrated [^{18}F]Fluoride Pre-Concentration Cartridge for Radiopharmaceuticals

Blas Salvador[✉], Antonio Luque[✉], *Senior Member, IEEE*, Laura Fernandez-Maza, Ariadna Corral, Diana Orta, Isabel Fernández, and José Manuel Quero, *Senior Member, IEEE*

Abstract—This paper presents an integrated preconcentration cartridge for [^{18}F]Fluoride radiochemistry in a polydimethylsiloxane (PDMS) disposable chip. The fabrication process for the chip is designed to allow the construction of a final device for full synthesis of [^{18}F]Fluorideoxyglucose, one of the standard radiopharmaceuticals used in positron-emission tomography imaging. The preconcentration is the first step in that synthesis and is composed of two phases: 1) retention; and 2) elution. The experimental results show that both the retention and elution rates are close to 100% for initial activities of 500 μCi , operating pressures of 500 mbar, volumes up to 2 mL and elution with 30 μL of potassium carbonate (K_2CO_3), and cryptand solution (Kryptofix K222). These results prove that PDMS can be used for radiopharmaceutical synthesis, and its low cost allows the fabrication of disposable chips, which is very convenient in these applications. [2017-0170]

Index Terms—Positron emission tomography (PET), radiopharmacy, polydimethylsiloxane (PDMS).

I. INTRODUCTION

POSITRON emission tomography (PET) is a widely-used technique in medicine imaging which allows, among other things, to observe metabolic processes in the body. Its use starts with the obtention of a positron-emitter radionuclide. This isotope is then joined to a biologically active molecule and injected into the body of the patient [1].

The preparation of this injectable radiopharmaceutical takes several steps. The first one is the production of the radionuclide in a cyclotron. A cyclotron is a circular particle accelerator which, by the combined application of an oscillating electric field and a magnetic field, accelerates the ions by spinning them in increasing radio orbits and energy. Typical radiotracers are carbon-11, nitrogen-13, oxygen-15, or fluorine-18, with half-lives ranging from 2 to 110 min. One of the most widely-used and well-known radionuclides is fluorine-18, the PET isotope for [^{18}F]Fluorideoxyglucose ([^{18}F]FDG), among others.

Manuscript received August 3, 2017; revised September 25, 2017; accepted October 7, 2017. Date of publication October 31, 2017; date of current version November 29, 2017. This work was supported in part by the Junta de Andalucía under Project P12-TIC-2296 and in part by Siemens Healthcare S.L.U. Subject Editor C. Ahn. (*Corresponding author: Antonio Luque.*)

B. Salvador, A. Luque, and J. M. Quero are with the Department of Electronics Engineering, University of Seville, 41092 Seville, Spain (e-mail: aluque@ieee.org).

L. Fernandez-Maza, A. Corral, D. Orta, and I. Fernandez are with the Centro Nacional de Aceleradores, US, CSIC, Junta de Andalucía, 41092 Seville, Spain.

Color versions of one or more of the figures in this paper are available online at <http://ieeexplore.ieee.org>.

Digital Object Identifier 10.1109/JMEMS.2017.2764121

1057-7157 © 2017 IEEE. Personal use is permitted, but republication/redistribution requires IEEE permission.

See http://www.ieee.org/publications_standards/publications/rights/index.html for more information.

After the radionuclide has been produced in a cyclotron target of ^{18}O -enriched water, a number of additional steps are necessary in order to produce the doses for the patients. [^{18}F]Fluoride is produced in very low concentrations, in the nano or picomolar range [2], so the following step is the preconcentration of [^{18}F]Fluoride, which is the focus of this paper. Later steps are radiolabeling of the precursor, deprotection of protecting groups, purification and final formulation of the radiopharmaceutical solution for clinical purposes.

Although most existing facilities for PET consist of hot cells where these steps take place, microfluidics has long been considered very appropriate for this application. An increased surface-to-volume ratio, typical in microfluidics, leads to a faster and more efficient mixing of reagents and improved reactions. The reagents ratios and the reaction time can be precisely controlled as well. In addition, smaller amounts of reagents, usually expensive, are needed. The management of dose-on-demand production in microfluidic devices allow to work with lower radioactivity, with no need of the expensive shielding requirements and infrastructures for industrial production [3]. Also, it is widely believed that microfluidic radiopharmacy will allow the radiopharmaceutical to be produced in the same clinical facilities where PET imaging takes place, instead of in close proximity to the cyclotron.

A typical microfluidic chip for radiopharmacy must have one preconcentration cartridge, a reaction chamber, and one or more purification cartridges or connection to an external HPLC system. The output of the cyclotron passes through the preconcentration cartridge, which captures the radionuclide (retention phase). Then the radioactive atoms are eluted in a second solution (increasing the concentration), which is moved to the reaction chamber where the labeling reaction takes place.

Concentration cartridges are commercially sold. For example, quaternary methyl ammonium (QMA) is typically used for [^{18}F]FDG synthesis [4]. QMA resin is a strong anion exchange (SAX) resin with cationic groups adsorbed in silica particles of 40 μm . QMA groups retain [^{18}F]Fluoride ions in the retention phase. Usually, the QMA resin must be activated with K_2CO_3 prior to use.

Most microfluidic developments use these off-the-shelf cartridges, which are simply connected to the chip which contains the rest of components. The integration of the

Silicon photomultipliers for determining position of microfluidic radioactive samples

B. Salvador^{1*}, D. Escalante², L. Fernández², A. Corral³, S. Camacho², J.M. Quero¹, A. Luque¹

¹ Dept. Electronic Engineering, ² Technological Institute of Monterrey, ³ National Accelerators Centre
Universidad de Sevilla Campus Monterrey Universidad de Sevilla

bsalvador@us.es

Abstract—An on-chip sensing circuit for measuring radioactivity in different positions of a microfluidic device through the use of silicon photomultipliers (SiPM) is presented. It is intended for use in a microfluidic platform producing radiopharmaceuticals for PET imaging. The results show that an array of SiPMs can be used to determine the position of a radioactive sample within a microfluidic chip with enough precision to be usable.

Keywords—Microfluidic, photomultipliers, radiation, radiopharmaceuticals.

I. INTRODUCTION

In recent years, the concept of dose on demand for the generation of radiopharmaceuticals for the diagnosis and monitoring of diseases has become relevant. PET analysis is usually the most used [1]. Quality controls for PET are based on three factors, activity, half-life and radionuclide purity [2].

The Geiger-Müller tubes [3] [4] have been the most commercially used radiation detectors for many years, given their robustness. Currently, other detectors work through quantum effects and are capable of detecting radiation using the properties of semiconductor materials.

In this way, the Charge-Coupled Devices (CCD) are integrated circuits that contain a certain number of coupled capacitors, which, by means of a control system, are capable of transferring the energy to the capacitors that are at their side [5]. The physical functioning of these detectors is based on the photoelectric effect, which produces an electrical current that is amplified using capacitors and powerful optical lenses.

Currently, there are several studies to detect radiation using scintillators. Scintillators are instruments used to measure radioactivity due to the positron-electron interaction that generates two parallel gamma rays, with the same direction, but different way. In [6] a prototype imaging system was developed capable of detecting and quantifying minimum quantities of beta particles in a microfluidic PDMS chip by using a scintillator, an

optical lens and a CCD coupled charge device. These studies showed that the device is capable of discerning between pairs of channels for a solution of 18F with a separation between them of 300 to 500 μm .

In [7] a method called radioluminescence microscopy, based on scintillators, is used. In which the radiopharmaceutical sample was placed in a thin film scintillator made with Lu_2O_3 . In this film, light is produced due to the decay of positrons, which was measured using a high sensitivity microscope. The results of this investigation showed a spatial resolution of measurement of 5 μm and the minimum detectable radioactive activity was 150 Bq / mm^2 .

A photomultiplier tube, is an optical vacuum detector that takes advantage of the secondary emission of electrons to respond to quite low levels of illumination. In [8] a beta camera (BETABOX) is developed that allows to obtain flat images of the spatial and temporal distribution of the beta particles using a position sensitive avalanche photodiode of 14x14 mm^2 . The radiopharmaceutical sample was contained in a chamber made of PDMS with a separation of 50 μm between the sensor and the microfluidic chip.

Among these devices are the SiPM, which are capable of generating a Geiger avalanche effect when a photon is detected, thus generating a photocurrent. Also, a photocurrent of greater magnitude is generated when a greater number of photons impacts on the SiPM [9]. The number of impact counts per second (cps) is a measure of radioactivity.

In this paper, using a SiPM matrix, a system capable of determining the positions where the activity is concentrated using a SiPM matrix has been developed. This measurement can provide information on the progress of the different steps of the radiopharmaceutical synthesis in a microfluidic device.

II. SETUP FOR MONITORING

The SiPM used is the sensor ArrayC-30035-16P from SensL. The detection of activity is focused on an area of 256 mm^2 , in sectors of 9 mm^2 .

In mathematical terms, the current in a SiPM is given by:

Integrated anion-exchange cartridge for $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ preconcentration in a PDMS radiopharmacy chip

B. Salvador, A. Luque, J.M. Quero
Dept. Ingeniería Electrónica
Universidad de Sevilla
Seville, Spain
bsalvador@us.es

L. Fernández, A. Corral, D. Orta, I. Fernández
Centro Nacional de Aceleradores
US, CSIC, Junta de Andalucía
Seville, Spain
lfmaza@us.es

Abstract— Microfluidic techniques have demonstrated an important impact on radiochemical reactions for Positron Emission Tomography (PET), due to smaller reaction times and precursor quantities.

An integrated retention and elution cartridge integrated in a PDMS chip is presented, and experimental results that confirm its operation are provided. It is intended to preconcentrate $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ ions in a microfluidic system to produce radiopharmacy drugs for PET imaging.

Pre-concentration and subsequent drying of $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ ions is the first step of the radiotracer production process, and is usually performed via trapping of radioactive fluoride from a solution onto anion exchange cartridges. The fluoride is recovered by elution from the cartridge with high ionic strength salt solutions, in this case K_2CO_3 . In this work Sep-Pak Light Plus QMA resin (60 μm diameter, Waters, USA) are used for made the cartridges. A retention rate of 91-100% and elution rates between 94 and 97% are obtained.

Keywords—Microfluidic, cartridge, radiopharmacy, PET imaging.

I. INTRODUCTION

Microfluidic production of radiopharmacy doses for Positron Emission Tomography (PET) [1] imaging draws high attention for its promised increase in efficiency and reduction in shielding. There are many technical advantages in microfluidics, in particular the high surface to volume ratio and fast thermal heating and cooling rates of reagents. Therefore, it should be possible to reduce reaction times, increasing synthesis yields and reducing the amount of reagents required. However, the number of microfluidic reactors utilized for commercial production of PET tracers is still very limited [2].

The selection of the materials of microfluidic devices have consequences on system performance, manufacturing and cost [3]. There are many polymers which could be used for microfluidic chip design. Polyether ether ketone (PEEK) has been employed for non-disposable systems or components in radiochemistry [4]. Another promising material is cyclic olefin co-polymers (COC). COC can be injected in a mold with high accuracy and reproducibility at the same time that is compatible to most acids, bases and solvents [5]. Polydimethylsiloxane (PDMS) is frequently used for the

production of microfluidic devices and offers highly integrated components such as micro-valves [6]. However, some authors highlight the incompatibility of PDMS with alcohols or organic solvents and the diffusion of $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ into the material [7].

PET is a molecular imaging modality able to detect the positron-emitting radiotracers in living subjects with high resolution and sensitivity. $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ labeled compounds are the most frequently used radiopharmaceuticals. The ability of having table-top systems for dose synthesis close to the patient would mean an improvement in the complete chain. $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ is still the most used radiotracer for imaging, and the process of creating a human-injectable dose starts with the preconcentration of $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ ions coming from a cyclotron.

The PET tracer synthesis process consists of different steps, although the focus of this work will rely on the first one that is the concentration and phase transfer of fluoride-18 activity from the cyclotron target water into dry conditions. In all synthesizers, this process is carried out by a fluoride trapping on a silica-based resin [8]. Further steps include the chemical reaction itself for creation of the radiopharmaceutical, the removal of impurities, and the final quality control to verify the suitability of the produced dose.

Apart from providing $[^{18}\text{F}]\text{F-}$ fluoride in an organic soluble form, silica based cartridges provide a link between the macro-scale cyclotron target volume (typically radioactive isotopes are delivered to the synthesizer in approximately 1 to 3 mL of cyclotron target water) and the microfluidic processing volumes below 100 μL .

This is done in an anion-exchange cartridge filled with resin (QMA is one of the most widely used resins [9]). Previous developments of PDMS-based microchips for radiopharmacy production lacked the integration of such cartridges [10], which need to be connected externally, now we present a cartridge that can be easily integrated inside a PDMS chip in an inexpensive fabrication process.

II. FABRICATION PROCESS

The fabrication process needs to create the channels which will guide the different reagents inside the system, the chamber where the reaction will take place in the future, the inlets and outlets of the chip, and, most importantly in this work, the cartridge filled with anion-exchange resin

Microfluidic capacitive tilt sensor using PCB-MEMS

Blas Salvador, Antonio Luque, José M. Quero
Dept. Electronics Engineering
University of Seville, Seville, Spain
bsalvador@us.es

Abstract—This paper presents a low-cost tilt sensor based on fluidic movement and fabricated using PCB-MEMS techniques. The principle of operation is the measurement of capacitance change between two electronics inside a circular channel, partially filled with a non-conductive liquid. Physical principle and mathematical analysis are presented, followed by the design and fabrication process. This process is based on a combination of standard PCB processing, useful and inexpensive to create copper electrodes, with SU-8 positive photoresist to build the channels. The choice of the liquid to be used has a strong influence on the final behavior, and properties like dielectric permittivity and surface tension must be taken into account simultaneously. Experimental results show that tilt is measured using the prototype device in a range close to 360° , with a sensitivity up to 0.0036pF° and a bandwidth of 0.18Hz .

Keywords—MEMS, Inclinator, Tilt Sensor, Microfluidic, PCB

I. INTRODUCTION

Typically, MEMS fabrication processes are directed towards building micrometer-size devices [1], [2]. But the combination of these processes with other that traditionally belonged to the macro-world can provide advantages in the fabrication of large devices at a low cost and with high repeatability and precision.

This is the case of PCB-MEMS [3], where some of the standard MEMS processes are combined with the processing of Printed Circuit Boards (PCBs) in an inexpensive way, and allows the fabrication of different devices, inertial sensors [4] or microfluidic systems [5] among others.

A tilt sensor or inclinometer is an electronic device whose output is an electronic signal which is a function of the inclination of the device relative to gravity [6]. Many industrial applications require tilt measurement, for example wind turbines, cranes, solar panels, dam monitoring, gas and oil extraction, among others.

Tilt sensors usually make use of the movement of a part of the device caused by a change of the direction of gravity relative to the device itself. There are MEMS tilt sensors based on capacitance, conductance, light reflection, piezoelectricity, etc. and that can measure tilt on one, two or all three axis.

A MEMS electrolytic MEMS tilt sensor reported in [7] is based on a reservoir filled with a conductive liquid and two electrodes placed in opposite ends of the reservoir. In horizontal position, both electrodes are covered by the liquid at the same level, while a tilt causes a change in the conductance between both electrodes.

Fiber optics can also be used in inclinometers [8]. Again, a liquid in a reservoir moves relative to the sensor with tilt. In

this case, the liquid is mercury and its free surface reflects light coming from a fiber. The angle with which the light reflects is a measure of the tilt angle. This reflected light is measured with a light-dependent-resistor (LDR).

Several inclinometers have been developed which are based on a pendulum which moves or oscillates when the device is tilted. The sensor described in [9] is composed by two coils with a pendulum between them. When the device is vertically aligned there is electrical equilibrium, but when it is tilted, the pendulum moves towards one of the coils, changing the value of the inductance and creating a voltage in the output. Another approach is to sandwich a metal pendulum between two glass-SU-8 layers [10], with the aim of reducing significantly the friction forces and improving the linear range up to 320° .

Electrostatic forces have also being used to measure inclination [11]. Differential actuation electrodes are used, and their pull-in voltages change with the direction of gravity. Measuring these voltages is a precise method of determining tilt. This sensor has the advantage of being able to automatically adjust for thermal variations.

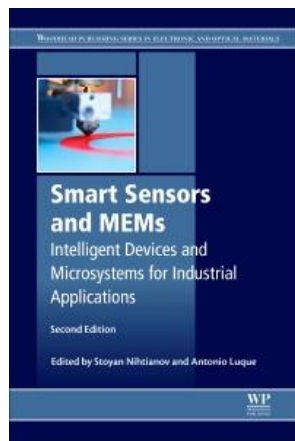
Air temperature can also be used to measure tilt [12]. Air is heated inside a cavity using several resistors. When the device is placed horizontally, the temperature has a symmetric distribution, which turns into asymmetric if the device is tilted, as hot air tends to occupy the higher part of the cavity because of its lower density. A number of temperature sensors are able to measure the temperature gradient and the tilt angle can be obtained.

An inertial mass in a piezoelectric beam can also be used to measure tilt [13]. Inclination makes the beam to deflect following the direction of gravity, and the deformation is measured using the piezoelectric effect.

This paper presents a tilt sensor which measures tilt using a circular channel partially filled with liquid with high electrical permittivity. When there is a tilt angle, the part of the channel which is occupied by the liquid changes, and can be measured as a capacitance variation thanks to two electrodes placed inside the channel. The main advantage of this design is its simplicity and reliability. It can be built using inexpensive materials and processes by using standard PCB substrates and SU-8 negative photoresist.

II. DESIGN

Tilt angle will be measured by sensing the liquid level inside a circular channel. This channel contains two capacitors formed by circular copper tracks, whose gap will be partially occupied in length by the liquid. The capacitance of each one is thus a function of the tilt angle. In order to avoid some



14

Microreaction chambers

B. SALVADOR and A. LUQUE

Universidad de Sevilla, Spain

Abstract: In this chapter, we present microsystems aimed to the chemical or biological synthesis of new products. The reaction typically happens in chambers inside the microsystem, where controlled conditions are in place, but other components are necessary to bring the samples to the chamber, precondition them, and monitor the whole process. All these components will be described, with special emphasis in one application that is expected to be widely used in the near future: the creation of drugs for animal or human consumption, particularly those synthesized from radioactive elements, which are very commonly used in tumor detection and diagnosis using positron-emission tomography (PET).

Key words: chambers, total analysis system, lab-on-chip

14.1 Introduction

Chemical reactor systems have been adopted for many years in chemistry research and industrial processes. Small scale versions (of micrometer size) of such reactors can take advantage of the improvements in efficiency that appear at such scales, for example reduced reaction times,

Índice de Figuras

1.1	Proceso de producción de radiofármacos PET	3
1.2	Imagen del ciclotrón Cyclone de 18/9 MeV situado en las instalaciones del CNA	4
1.3	Laboratorio de producción de radiofarmacia. En la imagen se pueden ver las distintas celdas de producción	5
1.4	Panel de control del módulo Tracerlab. Desde el ordenador se puede actuar sobre las distintas partes del sistema: válvulas, presión de aire, bombas de vacío	7
1.5	Proceso de síntesis del radiofármaco [^{18}F]FMISO	7
1.6	Escáner PET/CT para pacientes situado en el Centro de Diagnóstico de Imagen (CDI)	8
2.1	(a) Ejemplo de chip microfluídico fabricado en teflón. (b) Chip con hidrogel para la observación y el control de la señalización bacteriana mediante biopelículas estratificadas [85]	14
2.2	(a) Medición de marcadores de la función hepática utilizando un dispositivo fabricado en papel. (b) Reconstitución de las funciones pulmonares en un chip híbrido de PDMS [85]	15
2.3	(a) Fotografía del chip realizado en PDMS, los canales tienen distintos colores para identificar su función. (b) Esquema del funcionamiento de las válvulas. (c) Esquema del chip completo y resumen de los pasos para realizar la síntesis del [^{18}F]FDG [61]	16
2.4	(a) Preconcentración del [^{18}F] en la columna de intercambio iónico. (b) Evaporación del agua de la muestra en el anillo de reacción tras su elución desde la columna de intercambio. Se cierran todas las válvulas y se activa la bomba de recirculación. (c) Reacción de fluoración, en la que se introduce el trifalto de manosa y el Kryptofix en el anillo (d) Fase de hidrólisis, en la se introduce HCl en anillo para obtener el producto final [61]	17

2.5	(a) Imagen del chip completo con los canales microfluídicos en verde, las válvulas en rojo y el serpentín de extracción en amarillo. (b) Estructura central del reactor con los reactivos que se introducen para la síntesis de [^{18}F]FDG. (c) Dosis del radiofármaco analizadas tras ser eluido (pureza del 96 %) y tras ser purificada (pureza de más del 99 %). (d) Validación de la síntesis mediante imagen PET de un ratón [27]	18
2.6	Estudio de las imágenes grabadas, donde las zonas oscuras representan el agua y las zonas claras una solución fluorada. (a) Mezcla con un solo canal perpendicular sin asistencia de vacío. (b) Mezcla con un solo canal perpendicular con asistencia de vacío [28]	20
2.7	Campos escalares durante la elución, donde el color azul indica el fluido no eluido y el color rojo el fluido eluido. (a) 30 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (b) 50 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (c) 80 % de elución para $\alpha=0^\circ$ y $\beta=180^\circ$. (d) 30 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$. (e) 50 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$. (f) 80 % de elución para $\alpha=45^\circ$ y $\beta=60^\circ$ [28]	21
2.8	Esquema de funcionamiento para el marcaje y la purificación del [^{18}F] mediante el sistema Nanotek [79]	22
2.9	(a) Fotografía del chip desrrollado por Zhang. (b) Esquemaático del chip empleado para la producción de [^{18}F]fallypride. (c) Fotografía del cartucho de intercambio iónico con la resina y una separación entre columnas de 10 μm . (d) Fotografía del cartucho de purificación con la resina y una separación entre columnas de 40 μm [114]	23
2.10	(a) Preconcentración del flúor. (b) Elución desde el cartucho de retención a la cámara de reacción. (c) Evaporación y secado con nitrógeno. (d) Fluoración [^{18}F]fallypride. (e) Filtrado de impurezas a través de la columna de purificación. (f) Elución del producto final [114]	24
2.11	(a) Chip EWOD completo con la cámara de reacción y varias entradas para reactivos. (b) Detalle de la cámara de reacción con un calentador y los electrodos para el sensado de la temperatura. (c) Corte transversal del chip EWOD donde se aprecian sus distintas capas [50]	25
2.12	(a) Chip completo en el interior de su encapsulado. (b) Sistema de microrreactor desarrollado para este estudio, en la imagen se representan el sistema de bombeo, el encapsulado del chip, el control de temperatura y el PC de control. (c) Diseño del chip para una sola reacción. (d) Diseño del chip para varias reacciones [55]	27
2.13	Representación esquemática de la columna de intercambio aniónico e instantánea del proceso de carga de partículas en la columna [61]	29
2.14	(a) Representación esquemática del chip en la que se muestra la parte superior e inferior. (b) Sección transversal del chip. (c) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de Chromabond PS-HCO ₃ y la cámara inferior de las partículas de Sep-Pak Light Plus QMA [?]	30

2.15	(a) Representación esquemática del chip en la que se muestra la parte superior e inferior. (b) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de PS-H + y la cámara inferior de las partículas de HR-P. (c) Fotografía del dispositivo realizado en vidrio, la cámara superior está rellena de las partículas de PS-HCO ₃ y la cámara inferior de las partículas de ALOX N [99]	31
2.16	Esquema del chip realizado para la fluoración, el precursor y la solución PTC circulan a través de los canales previamente tratados con PS-Im ⁺ Cl ⁻ [49]	32
2.17	(a) Esquema del chip con sus distintas partes. (b) Fotografía del chip microfluídico sobre el array SiPM. (c) Distribución de los sensores bajo el chip [97]	34
2.18	(a) Esquema del sistema ARAS con sus distintos módulos. (b) Fotografía del sistema completo [25]	35
2.19	Esquema con las diferentes capas del sistema, donde se representa el posicionamiento de los canales microfluídicos sobre el sensor de radiación [23]	36
2.20	(a) Esquema del proceso de fabricación del microcalentador conductivo en el canal de PDMS. (b) Imagen del dispositivo en la que se aprecian el canal para calentamiento y el canal para sensado [106]	37
2.21	(a) Esquema del proceso de calentamiento mediante la aplicación de microondas. (b) Imagen del crecimiento de los nanocristales de LaF ₃ / LaPO ₄ Ce, Tb [116]	37
2.22	Imagen del reactor de PCR basado en células Peltier [109]	38
2.23	(a) Mezclado que utiliza los ultrasonidos para mover las burbujas de aire en la microcámara. (b) Vista superior esquemática del mezclador. Los electrodos se conectan alternativamente a los polos de la fuente de alimentación para generar el campo magnético [60]	39
2.24	(a) Fotografía del diseño que emplea la intersección de canales para la mezcla de volúmenes cercanos a los picolitros. (b) Fotografía con microscopio del canal en zigzag con 100 μm de ancho y 800 μm de longitud en cada tramo [43] [73]	40
3.1	Esquema de los distintos requisitos y decisiones a tomar para realizar la estructura del chip	44
3.2	Mejoras y adaptaciones que se pretenden llevar a cabo en la estructura final del chip microfluídico propuesto	45
3.3	Imagen del chip fabricado en PDMS	47
3.4	(a) Molde para el chip de PDMS fabricado en SU-8 sobre sustrato PCB. (b) Encapsulado de aluminio empleado para que el chip de PDMS se fabrique con las dimensiones adecuadas	48
3.5	Unión de todo el conjunto y método de la inyección del PDMS en el molde	49
3.6	(a) Molde para el chip de PDMS fabricado en SU-8 sobre sustrato PCB. (b) Encapsulado en PLA empleado para que el chip de PDMS se fabrique con las dimensiones adecuadas. (c) Chip microfluídico fabricado en PDMS	50
3.7	Layout del dispositivo, las distintas capas representan cada una de las partes del chip y su colocación para coincidir con las partes más importantes del sistema (válvulas, calentador...)	51

3.8	(a) Vista lateral del sustrato PCB para la fabricación del molde. (b) Atacado químico del cobre para dejar las marcas de alineación. (c) Deposición de la capa semilla. (d) Deposición de la capa de 150 μm para los canales y la cámara. (e) Deposición del resto de capas para la cámara de 600 μm . (f) Molde terminado una vez realizado el revelado	52
3.9	Molde de SU-8 junto con el encapsulado imprimido en 3D que darán forma al chip	53
3.10	Proceso de llenado del molde para la fabricación del chip de PDMS	54
3.11	(a) Vista lateral del sustrato PCB con el encapsulado de PLA. (b) Inyección del PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip y realización de los orificios. (d) Colocación del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (e) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (f) Separación del chip microfluídico del acetato	55
3.12	Imagen del dispositivo microfluídico diseñado	56
3.13	Funcionamiento del solenoide para la apertura y el cierre de una válvula sobre un canal microfluídico	58
3.14	(a) Dimensiones principales del solenoide. (b) Fotografía del solenoide de TDS empleado para la implementación del sistema de válvulas	58
3.15	(a) Dimensiones del solenoide. (b) Fotografía del solenoide	59
3.16	Imagen de la estructura que alinea cada uno de los canales del chip con sus respectivos solenoides	60
3.17	Imagen de las diferentes partes del montaje realizado para realizar las pruebas del sistema de control de fluidos	61
3.18	(a) Encapsulado para seis solenoides con el chip empleado para realizar las pruebas. (b) Sistema de válvulas conectado a la electrónica que las controla	62
3.19	(a) Encapsulado para doce solenoides cerrado. (b) Encapsulado abierto con el chip en su interior	63
3.20	(a) Disposición de los solenoides. (b) Orificios de entrada de reactivos al interior del chip	64
3.21	Puntos de presión de los solenoides en el chip para accionar las válvulas y numeración elegida	65
3.22	Soporte de sujeción de los viales para la impulsión y el reparto de reactivos al interior del chip microfluídico	66
3.23	Esquema del funcionamiento del primer prototipo del sistema de calentamiento y extracción de gases	66
3.24	Imagen del calentador fabricado en PCB con el sensor de temperatura (ampliada), el chip se coloca en su encapsulado quedando la cámara en el centro	67
3.25	Esquema del funcionamiento y de las partes del prototipo final del sistema de calentamiento y extracción de gases	68
3.26	(a) Cilindro de aluminio mecanizado con rosca y adaptador tubo a rosca. (b) Detalle de ambas partes unidas donde se aprecia la rejilla de extracción	68
3.27	Medidas principales del calentador que rodea el cilindro	69
3.28	(a) Calentador fabricado en PCB flexible, para su colocación será necesario recortarlo, soldar el sensor TMP102 y aislar las pistas que llevan las señales al sensor con cinta adhesiva de Kapton. (b) Dispositivo final fabricado	70

3.29	(a) Cámara de intercambio iónico de PDMS con filtro de columnas, sin rellenar. (b) Cámara de intercambio iónico de PDMS con filtro de columnas, rellena de resina QMA	72
3.30	(a) Imagen al microscopio de las partículas de resina QMA, las medidas van desde los 32,8 μm hasta los 70,3 μm . (b) Imagen al microscopio de las partículas de resina QMA, las medidas van desde los 24,6 μm hasta los 78 μm	73
3.31	(a) Cartucho de QMA abierto de donde se obtenía la resina y los filtros que se empleaban para realizar los modelos microfluídicos. (b) Varias cámaras de intercambio iónico en un mismo chip. (c) Canal en forma de serpentín relleno de resina QMA con filtro comercial a la salida. (d) Canal recto relleno de resina QMA con filtro comercial troquelado introducido en el orificio de salida	74
3.32	Tubo de teflón relleno de resina con filtros en los extremos. Se introduce en un chip de PDMS para realizar las pruebas. En los canales y en tubo se ha introducido tinta azul	75
3.33	(a) Vista lateral del sustrato PCB con los canales de SU-8. Sobre el mismo se coloca el encapsulado de PLA y la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip. (d) Realización de los orificios y colocación de los filtros. (e) Superposición del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (f) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (g) Separación del chip microfluídico del acetato y rellenado con la resina QMA. (h) Cerrado de la cámara con un émbolo de jeringa	76
3.34	(a) Encapsulado de PLA fabricado con la impresora 3D y con la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) Chip de PDMS fabricado con una cámara de intercambio.	77
3.35	(a) ArrayC-30035-16p de SensL, compuesto de 16 píxeles MicroFC-30035. (b) Parte trasera del sensor, el conector empleado es el Hirose DF17(3.0)-40DS-0.5V(57). (c) Esquemático de las dimensiones del sensor	79
3.36	PDE frente a la longitud de onda para un sensor MicroFC-30035	80
3.37	Esquema que reúne las diferentes partes que integran el sistema de generación de radiofármacos completo	81
3.38	Imagen en la que se localizan los módulos del sistema, preparados para la realización de una síntesis	82
4.1	Entradas y salidas del sistema implementado, necesarias para la síntesis de radiofármacos	83
4.2	(a) Placa de Arduino Mega 2550 utilizada. (b) Placa auxiliar, para el control de los solenoides y la temperatura, que conecta con la placa de Arduino	84
4.3	Pinout de la placa Arduino Mega 2550 empleada	85
4.4	Panel frontal principal del programa para la interfaz con el usuario	87
4.5	Panel de programación del modo automático	88
4.6	Estructura de archivos del programa	90
4.7	Situación de los distintos bloques de funcionalidad dentro del archivo FRONT PANEL . vi	90
4.8	Variables globales del sistema	91

4.9	Situación de los distintos bloques de funcionalidad dentro del archivo <code>ModoAutomatico.vi</code>	92
4.10	(a) Comparativa de la estabilidad del caudal del sistema de Fluigent con una bomba peristáltica de 250 μL . (b) Comparativa de la estabilidad del caudal del sistema de Fluigent con una bomba peristáltica de 2500 μL	94
4.11	Montaje para experimentación con MFCS-EZ y el software MAESFLO	95
4.12	Partes del Flow Rate Platform. (a) Medidor de caudal o Flow Unit. (b) Plataforma para conectar los diferentes medidores o Flow Board	95
4.13	Obtención del caudal del fluido por parte de la Flow Unit	96
4.14	Conexión de los módulos de control de flujo del sistema Fluigent	96
4.15	Ventana de calibración de la Flow Rate Platform mediante la aplicación Wizard incorporada	97
4.16	(a) Parte del diagrama de bloques de LabView proporcionado por Fluigent. (b) Respuesta estable de la Flow Rate Platform en el tiempo una vez calibrada	98
4.17	(a) Pines de control de cada uno de los solenoides. (b) Placa de circuito auxiliar donde se resalta la disposición de cada uno de los puentes H	99
4.18	Parte de la programación en LabView en el que se muestran algunos de los pines de salida para el control de los solenoides	100
4.19	(a) Esquema simplificado para la conexión del TMP102. (b) Diagrama de bloques de los componentes del sensor de temperatura	100
4.20	Conexión del sensor de temperatura TMP102 a la placa de Arduino	101
4.21	Conexión de control de la temperatura del calentador	102
4.22	Conexión de control del sistema de extracción de gases	103
4.23	(a) ArrayC-30035-16p. (b) Multiplexor. (c) Circuito de conversión de corriente a tensión. (d) etapa de amplificación. (e) Sistema embebido	104
4.24	Empleo de la segunda etapa de comparación realizado con un amplificador Riel-to-Riel OPA2354. En rojo la salida de la primera etapa, en verde la de la segunda. Realizado en TINA.	105
4.25	Montaje de las diferentes partes del sistema sobre una placa de pruebas	106
5.1	Montaje experimental en el que el chip con la cámara de retención esta en parte central de la imagen	108
5.2	Procesos de medición de los porcentajes de retención y de elución. En la fase 1 se introduce una radiactividad inicial A_i y se retiene una radiactividad A_{ret1} . En la fase 2, no se introduce ninguna radiactividad y se eluye una radiactividad A_{waste2} . De estas magnitudes se deducen los porcentajes de retención y elución	109
5.3	Cambios en los porcentajes de retención y elución debidos a la repetición de pruebas sobre un mismo dispositivo	112
5.4	Resultado de la prueba de purificación de la cámara con 5 mg de resina SCX. La imagen muestra los dispositivos empleados y las placas de yodoplatinato	114
5.5	(a) Pantalla de configuración para una secuencia con un estado y una condición de cambio de tiempo. (b) Archivo de configuración generado	120
5.6	Resultado para la secuencia de un estado, con una condición de cambio y sin Fluigent	121

5.7	(a) Pantalla de configuración para una secuencia con el primer estado y una condición de cambio de tiempo. (b) Pantalla de configuración para el segundo estado y una condición de cambio de temperatura. (c) Archivo de configuración generado	121
5.8	(a) Resultado del primer estado para la secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent. (b) Resultado del segundo estado para la secuencia de dos estados, con dos condiciones de cambio y sin Fluigent	122
5.9	(a) Pantalla de configuración para el primer estado y una condición de cambio de volumen. (b) Pantalla de configuración para el segundo estado y una condición de cambio de temperatura. (c) Pantalla de configuración para una secuencia del tercer estado y una condición de cambio de tiempo. (c) Archivo de configuración generado	123
5.10	(a) Resultado del primer estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent. (b) Resultado del segundo estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent. (c) Resultado del tercer estado para la secuencia de tres estados, con tres condiciones de cambio y con Fluigent	124
5.11	Montaje experimental para evaluar el funcionamiento del sensor SiPM	125
5.12	Representación de la colocación del vial con fluoruro en cada una de las esquinas del sensor SiPM: (a) píxel 0, (b) píxel 3, (c) píxel 12 y (d) píxel 15	125
5.13	Mapas de calor de las distintas mediciones: (a) píxel 0, (b) píxel 3, (c) píxel 12 y (d) píxel 15	126
5.14	Posición relativa del array de sensores con respecto a la cámara de retención y a la cámara de reacción	128
5.15	Posicionamiento del chip sobre el array para la realización de la prueba	128
5.16	(a) Mapa de calor de la medición de actividad en la cámara de retención, píxeles 2 y 3. (b) Mapa de calor de la medición de actividad en la cámara de reacción, píxeles 8, 9, 12 y 13	129
5.17	Gráfica que muestra el incremento de cps en cada una de las dos posiciones	129
5.18	Esquema de las entradas (en verde) y salidas (en rojo) microfluídicas que intervienen en el proceso de síntesis	131
5.19	Colocación del chip con una entrada y una salida sobre el sistema de transferencia de calor y de vacío para la realización de pruebas	134
5.20	Cromatograma del patrón de [^{19}F]FMISO	135
5.21	(a) Cromatograma de la prueba realizada en el Tracerlab FXFN. (b) Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS	137
5.22	Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con mayor concentración inicial	138
5.23	Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo	139
5.24	Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo, incluyendo las resinas de purificación	140
5.25	Setup del sistema en el módulo de dispensación de las instalaciones del CNA	141
5.26	Cromatograma de la prueba realizada con el chip de PDMS con el sistema completo con [^{18}F]fluoruro, obteniéndose [^{18}F]FMISO	142
5.27	Cromatograma del patrón de [^{18}F]FMISO para validar la prueba	142

A.1	Layout del dispositivo, las distintas capas representan cada una de las partes del chip y su colocación para coincidir con las partes más importantes del sistema (válvulas, calentador...)	150
A.2	(a) Fotolito para la realización de la cámara y los canales, con las marcas de alineación. (b) Fotolito para dar la altura deseada a la cámara, con las marcas de alineación. (c) Fotolito para la fabricación de las marcas de alineación en el PCB.	151
A.3	(a) Vista lateral del sustrato PCB para la fabricación del molde. (b) Atacado químico del cobre para dejar las marcas de alineación. (c) Deposición de la capa semilla. (d) Deposición de la capa de 150 μm para los canales y la cámara. (e) Deposición del resto de capas para la cámara de 600 μm . (f) Molde terminado una vez realizado el revelado	153
A.4	(a) Vista lateral del sustrato PCB con el encapsulado de PLA. (b) Inyección del PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip y realización de los orificios. (d) Colocación del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (e) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (f) Separación del chip microfluídico del acetato	155
A.5	(a) Vista lateral del sustrato PCB con los canales de SU-8. Sobre el mismo se coloca el encapsulado de PLA y la barra que da forma a la cámara de intercambio. (b) PDMS en el interior del encapsulado. (c) Desmoldado del chip. (d) Realización de los orificios y colocación de los filtros. (e) Superposición del acetato sobre el vidrio y deposición de la membrana de PDMS. (f) Colocación del chip sobre la membrana y curado final. (g) Separación del chip microfluídico del acetato y rellenado con la resina QMA. (h) Cerrado de la cámara con un émbolo de jeringa	157
B.1	Versión implementada del array SiPM en la presente tesis	160
B.2	Versión final de integración propuesta con salida rápida y estándar instrumentadas y con MUX. La salida rápida permite aumentar la capacidad del sensor para contar los fotones	161
B.3	Suma de señales estándar (polarización negativa, no se requiere uso de MUX) y salida rápida (con MUX). Permite sumar las salidas de todos los sensores y obtener los valores de cada uno de ellos al mismo tiempo	162
C.1	Código en LabView para el panel frontal	166
C.2	Código en LabView para el modo automático	167
C.3	Código en LabView para comprobar el fichero	168
C.4	Código en LabView para leer el estado	169
C.5	Código en LabView para escribir el estado	170
C.6	Código en LabView para modificar un estado	171
C.7	Código en LabView para insertar estado	172
C.8	Código en LabView para borrar estado	173
C.9	Código en LabView para las condiciones de cambio (parte 1)	174
C.10	Código en LabView para las condiciones de cambio (parte 2)	175
C.11	Código en LabView para las condiciones de cambio (parte 3)	176

C.12	Código en LabView para las condiciones de cambio (parte 4)	177
D.1	Máscaras para las primeras cámaras de intercambio iónico con filtros de columnas de PDMS	179
D.2	Máscaras para las pruebas con las cámaras de intercambio iónico	180
D.3	Máscaras para el calentador empleado	181
D.4	Máscaras para uno de los primeros prototipos del chip microfluídico	182
D.5	Máscaras para otro de los primeros prototipos del chip microfluídico	183
D.6	Máscaras para el prototipo final del chip microfluídico	184

Índice de Tablas

3.1	Características principales de las resinas empleadas	71
5.1	Resultados de las diferentes presiones de entrada	110
5.2	Resultados para diferentes volúmenes de muestra	111
5.3	Pruebas de repetibilidad. La elución se realiza con 20 μL de K_2CO_3	112
5.4	Pruebas de repetibilidad. Elución con 15 μL de K_2CO_3 y 15 μL de K 2.2.2	112
5.5	Resultados para diferentes radiactividades iniciales	113
5.6	Resultado de la prueba de funcionamiento de la cámara de purificación rellena con alúmina, a la que se le incorpora SCX	115
5.7	Tiempos de reacción de las pruebas realizadas en un único dispositivo	117
5.8	Radioactividades medidas en MBq de las pruebas realizadas con [^{18}F]fluoruro en cada uno de los chips microfluídicos	118
5.9	Resultados de las mediadas en los 16 sensores cuando se coloca el vial en cada una de las esquinas del array	126
5.10	Entradas y salidas que intervienen en cada una de las fases de la síntesis	131
5.11	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	132
5.12	Entradas y salidas que intervienen en cada una de las fases de la síntesis	133
5.13	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	134
5.14	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	134
5.15	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	136
5.16	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	138
5.17	Parámetros que intervienen en cada una de las fases del proceso de síntesis	140

Bibliografía

- [1] Bq, <https://www.bq.com/es/>.
- [2] Centro nacional de aceleradores, cna, <http://www.centro.us.es/cna/index.php/es/>.
- [3] The comeceer group, <https://www.comeceer.com/>.
- [4] Lifa national instruments, <http://www.ni.com/>.
- [5] Ni labview, <http://www.ni.com/es-es/shop/labview/labview-details.html>.
- [6] Siemens healthcare gmbh, <https://www.healthcare.siemens.com/>.
- [7] Tds, <http://www.tdsjp.co.jp/english>.
- [8] Ismail Emre Araci and Stephen R Quake, *Microfluidic very large scale integration (mvlsi) with integrated micromechanical valves*, Lab on a Chip **12** (2012), no. 16, 2803–2806.
- [9] Carmen Aracil, Juan Garcia, and Jose Manuel Quero, *Discrete fluid samples micro-extractor*, Industrial Electronics, 2007. ISIE 2007. IEEE International Symposium on, IEEE, 2007, pp. 3261–3266.
- [10] FR Arutyunian and VA Tumanian, *The compton effect on relativistic electrons and the possibility of obtaining high energy beams*, Phys. Letters **4** (1963).
- [11] Anthony K Au, Hoyin Lai, Ben R Utela, and Albert Folch, *Microvalves and micro-pumps for biomems*, Micromachines **2** (2011), no. 2, 179–220.
- [12] Hélène Audrain, *Positron emission tomography (pet) and microfluidic devices: a breakthrough on the microscale?*, Angewandte Chemie International Edition **46** (2007), no. 11, 1772–1775.
- [13] Imadeddine Azzouz, Yamina Ghozlane Habba, Martine Capochichi-Gnambodoe, Frédéric Marty, Jérôme Vial, Yamin Leprince-Wang, and Tarik Bourouina, *Zinc oxide nano-enabled microfluidic reactor for water purification and its applicability to volatile organic compounds*, Microsystems & Nanoengineering **4** (2018), 17093.

- [14] John Barnes, *High performance liquid chromatography*, John Wiley & Sons, 1992.
- [15] Haim H Bau, Jihua Zhong, and Mingqiang Yi, *A minute magneto hydro dynamic (mhd) mixer*, *Sensors and Actuators B: Chemical* **79** (2001), no. 2-3, 207–215.
- [16] Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L Siegel, Lindsey A Torre, and Ahmedin Jemal, *Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*, CA: a cancer journal for clinicians (2018).
- [17] Joseph F Bunnett and Roland E Zahler, *Aromatic nucleophilic substitution reactions.*, *Chemical Reviews* **49** (1951), no. 2, 273–412.
- [18] Miguel Cabello, Carmen Aracil, Francisco Perdigones, Marta Mozo, Berta de la Cerda, and José M Quero, *Gold microelectrodes array embedded in pdms for electrical stimulation and signal detection*, *Sensors and Actuators B: Chemical* **257** (2018), 954–962.
- [19] Simon R Cherry and Sung-Cheng Huang, *Effects of scatter on model parameter estimates in 3d pet studies of the human brain*, *IEEE transactions on nuclear science* **42** (1995), no. 4, 1174–1179.
- [20] Hansang Cho, Ho-Young Kim, Ji Yoon Kang, and Tae Song Kim, *How the capillary burst microvalve works*, *Journal of colloid and interface science* **306** (2007), no. 2, 379–385.
- [21] Anderson Chuck, Philip Jacobs, J Wayne Logus, Donald St Hilaire, Chester Chmielewicz, and Alexander JB McEwan, *Marginal cost of operating a positron emission tomography center in a regulatory environment*, *International journal of technology assessment in health care* **21** (2005), no. 4, 442–451.
- [22] Bong Geun Chung, Kwang-Ho Lee, Ali Khademhosseini, and Sang-Hoon Lee, *Microfluidic fabrication of microengineered hydrogels and their application in tissue engineering*, *Lab on a Chip* **12** (2012), no. 1, 45–59.
- [23] Laurence Convert, Frédérique Girard Baril, Vincent Boisselle, Jean-François Pratte, Réjean Fontaine, Roger Lecomte, Paul G Charette, and Vincent Aimez, *Blood compatible microfluidic system for pharmacokinetic studies in small animals*, *Lab on a Chip* **12** (2012), no. 22, 4683–4692.
- [24] Francesco De Leonardis, Giancarlo Pascali, Piero A Salvadori, Paul Watts, and Nicole Pamme, *On-chip pre-concentration and complexation of [18f] fluoride ions via regenerable anion exchange particles for radiochemical synthesis of positron emission tomography tracers*, *Journal of Chromatography A* **1218** (2011), no. 29, 4714–4719.
- [25] Alex A Dooraghi, Lewis Carroll, Jeffrey Collins, R Michael van Dam, and Arion F Chatzioannou, *Aras: an automated radioactivity aliquoting system for dispensing solutions containing positron-emitting radioisotopes*, *EJNMMI research* **6** (2016), no. 1, 22.

- [26] Mark A Eddings, Michael A Johnson, and Bruce K Gale, *Determining the optimal pdms–pdms bonding technique for microfluidic devices*, Journal of Micromechanics and Microengineering **18** (2008), no. 6, 067001.
- [27] Arkadij M Elizarov, Hartmuth C Kolb, R Michael van Dam, James R Heath, Henry C Padgett, Jiang Huang, Antoine Daridon, Siemens Biomarker Solutions, and CA Culver City, *Coin-shaped reactor in microfluidic devices used for radiopharmaceutical synthesis*, 2006.
- [28] Arkadij M Elizarov, Carl Meinhardt, Reza Miraghaie, R Michael Van Dam, Jiang Huang, Antoine Daridon, James R Heath, and Hartmuth C Kolb, *Flow optimization study of a batch microfluidics pet tracer synthesizing device*, Biomedical microdevices **13** (2011), no. 1, 231–242.
- [29] Arkadij M Elizarov, R Michael van Dam, Young Shik Shin, Hartmuth C Kolb, Henry C Padgett, David Stout, Jenny Shu, Jiang Huang, Antoine Daridon, and James R Heath, *Design and optimization of coin-shaped microreactor chips for pet radiopharmaceutical synthesis*, Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine **51** (2010), no. 2, 282.
- [30] Katherine S Elvira, Xavier Casadevall i Solvas, Robert CR Wootton, et al., *The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis*, Nature chemistry **5** (2013), no. 11, 905.
- [31] Diego Escalante, *Diseño e instrumentación de un sistema de medición de radiación en una plataforma microfluídica productora de radiofármacos pet*, Master's thesis, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, May 2018.
- [32] William B Eubank and David A Mankoff, *Evolving role of positron emission tomography in breast cancer imaging*, Seminars in nuclear medicine, vol. 35, Elsevier, 2005, pp. 84–99.
- [33] G Flores, F Perdigones, C Aracil, and JM Quero, *Pressurization method for controllable impulsion of liquids in microfluidic platforms*, Microelectronic Engineering **140** (2015), 11–17.
- [34] Emilio Franco, Francisco Perdigones, Blas Salvador, and José Manuel Quero, *Bonding process using integrated electrothermal actuators for microfluidic circuit fabrication*, Journal of Micromechanics and Microengineering **28** (2018), no. 7, 075006.
- [35] Emilio Franco, Blas Salvador, Francisco Perdigones, Miguel Cabello, and José Manuel Quero, *Fabrication method of lab-on-pcb devices using a microheater with a thermo-mechanical barrier*, Microelectronic Engineering **194** (2018), 31–39.
- [36] J García Garzón, A Rodríguez Ogando, and A Cabrera Villegas, *Tomografía por emisión de positrones de cuerpo completo (pet/tac) con 18f-fluorodesoxiglucosa*, Revista Española de Medicina Nuclear e Imagen Molecular **28** (2009), no. 2, 85–89.

- [37] Maria Goeppert-Mayer, *Double beta-disintegration*, Physical Review **48** (1935), no. 6, 512.
- [38] Guillermo Gomez, *Control y automatización de procesos microfluídicos de síntesis de radiofármacos usando labview*, Tfg, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, 2017.
- [39] Michael M Graham, Lanell M Peterson, Jeanne M Link, Margaret L Evans, Wui-Jin Koh, James H Caldwell, Kenneth A Krohn, et al., *Fluorine-18-fluoromisonidazole radiation dosimetry in imaging studies*, Journal of Nuclear Medicine **38** (1997), no. 10, 1631.
- [40] Tove Gronroos, Olli Eskola, Kaisa Lehtio, Heikki Minn, et al., *Pharmacokinetics of [(18)f]fjtnim: A potential hypoxia marker for pet*, The Journal of Nuclear Medicine **42** (2001), no. 9, 1397.
- [41] Wei Gu, Xiaoyue Zhu, Nobuyuki Futai, Brenda S Cho, and Shuichi Takayama, *Computerized microfluidic cell culture using elastomeric channels and braille displays*, Proceedings of the National Academy of Sciences **101** (2004), no. 45, 15861–15866.
- [42] Noel Ha, Saman Sadeghi, and R van Dam, *Recent progress toward microfluidic quality control testing of radiopharmaceuticals*, Micromachines **8** (2017), no. 11, 337.
- [43] Bing He, Brian J Burke, Xiang Zhang, Roujian Zhang, and Fred E Regnier, *A picoliter-volume mixer for microfluidic analytical systems*, Analytical chemistry **73** (2001), no. 9, 1942–1947.
- [44] Peng He, Haejune Kim, Dawei Luo, Manuel Marquez, and Zhengdong Cheng, *Low-frequency ac electro-flow-focusing microfluidic emulsification*, Applied Physics Letters **96** (2010), no. 17, 174103.
- [45] DJ Herbert, S Moehrs, N D’ascenzo, Nicola Belcari, Alberto Del Guerra, F Morsani, and V Saveliev, *The silicon photomultiplier for application to high-resolution positron emission tomography*, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment **573** (2007), no. 1-2, 84–87.
- [46] Chih-Ming Ho and Yu-Chong Tai, *Micro-electro-mechanical-systems (mems) and fluid flows*, Annual Review of Fluid Mechanics **30** (1998), no. 1, 579–612.
- [47] Dongeun Huh, Benjamin D Matthews, Akiko Mammoto, Martín Montoya-Zavala, Hong Yuan Hsin, and Donald E Ingber, *Reconstituting organ-level lung functions on a chip*, Science **328** (2010), no. 5986, 1662–1668.
- [48] Ami E Iskandrian and Ernest V Garcia, *Nuclear cardiac imaging: principles and applications*, Oxford University Press, 2008.

- [49] Rehana Ismail, Jonathan Irribaren, Muhammad Rashed Javed, Ariella Machness, R Michael van Dam, and Pei Yuin Keng, *Cationic imidazolium polymer monoliths for efficient solvent exchange, activation and fluorination on a continuous flow system*, RSC Advances **4** (2014), no. 48, 25348–25356.
- [50] Muhammad Rashed Javed, Supin Chen, Jack Lei, Jeffrey Collins, Maxim Sergeev, Hee-Kwon Kim, Chang-Jin Kim, R Michael van Dam, and Pei Yuin Keng, *High yield and high specific activity synthesis of [¹⁸F] fallypride in a batch microfluidic reactor for micro-pet imaging*, Chemical Communications **50** (2014), no. 10, 1192–1194.
- [51] John Vernon Jelley, *Cherenkov radiation and its applications*, (1958).
- [52] Paul A Jerabek, Timothy B Patrick, Michael R Kilbourn, Douglas D Dischino, and Michael J Welch, *Synthesis and biodistribution of 18f-labeled fluoronitroimidazoles: potential in vivo markers of hypoxic tissue*, International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part A. Applied Radiation and Isotopes **37** (1986), no. 7, 599–605.
- [53] Eeva-Liisa Kämäräinen, Teija Kyllönen, Outi Nihtilä, Heikki Björk, and Olof Solin, *Preparation of fluorine-18-labelled fluoromisonidazole using two different synthesis methods*, Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals: The Official Journal of the International Isotope Society **47** (2004), no. 1, 37–45.
- [54] Haejune Kim, Dawei Luo, Darren Link, David A Weitz, Manuel Marquez, and Zhengdong Cheng, *Controlled production of emulsion drops using an electric field in a flow-focusing microfluidic device*, Applied Physics Letters **91** (2007), no. 13, 133106.
- [55] Hiroyuki Kimura, Kenji Tomatsu, Hidekazu Saiki, Kenji Arimitsu, Masahiro Ono, Hidekazu Kawashima, Ren Iwata, Hiroaki Nakanishi, Eiichi Ozeki, Yuji Kuge, et al., *Continuous-flow synthesis of n-succinimidyl 4-[¹⁸F] fluorobenzoate using a single microfluidic chip*, PloS one **11** (2016), no. 7, e0159303.
- [56] R Krasikova, *Synthesis modules and automation in f-18 labeling*, PET Chemistry, Springer, 2007, pp. 289–316.
- [57] Jason S Kuo and Daniel T Chiu, *Disposable microfluidic substrates: transitioning from the research laboratory into the clinic*, Lab on a Chip **11** (2011), no. 16, 2656–2665.
- [58] A Lamberti, SL Marasso, and M Cocuzza, *Pdms membranes with tunable gas permeability for microfluidic applications*, Rsc Advances **4** (2014), no. 106, 61415–61419.
- [59] Richard M Lambrecht, Rudi Neirinckx, and AP Wolf, *Cyclotron isotopes and radiopharmaceuticals—xxiii: Novel anhydrous 18f-fluorinating intermediates*, The International Journal of Applied Radiation and Isotopes **29** (1978), no. 3, 175–183.

- [60] Chia-Yen Lee, Chin-Lung Chang, Yao-Nan Wang, and Lung-Ming Fu, *Microfluidic mixing: a review*, International journal of molecular sciences **12** (2011), no. 5, 3263–3287.
- [61] Chung-Cheng Lee, Guodong Sui, Arkadij Elizarov, Chengyi Jenny Shu, Young-Shik Shin, Alek N Dooley, Jiang Huang, Antoine Daridon, Paul Wyatt, David Stout, et al., *Multistep synthesis of a radiolabeled imaging probe using integrated microfluidics*, Science **310** (2005), no. 5755, 1793–1796.
- [62] Dong Eun Lee, Steve Soper, and Wanjun Wang, *Design and fabrication of an electrochemically actuated microvalve*, Microsystem Technologies **14** (2008), no. 9-11, 1751–1756.
- [63] Jessamine Ng Lee, Cheolmin Park, and George M Whitesides, *Solvent compatibility of poly (dimethylsiloxane)-based microfluidic devices*, Analytical chemistry **75** (2003), no. 23, 6544–6554.
- [64] Junghoon Lee, Hyejin Moon, Jesse Fowler, Thomas Schoellhammer, and Chang-Jin Kim, *Electrowetting and electrowetting-on-dielectric for microscale liquid handling*, Sensors and Actuators A: Physical **95** (2002), no. 2-3, 259–268.
- [65] Jean-Luc Lim and Marc S Berridge, *An efficient radiosynthesis of [18f] fluoromisonidazole*, Applied Radiation and Isotopes **44** (1993), no. 8, 1085–1091.
- [66] Robin Hui Liu, Ralf Lenigk, Roberta L Druyor-Sanchez, Jianing Yang, and Piotr Grodzinski, *Hybridization enhancement using cavitation microstreaming*, Analytical Chemistry **75** (2003), no. 8, 1911–1917.
- [67] Fred Alonso López Durán and René Drucker Colín, *La radioquímica de la [18-f]-fdg: la primera experiencia en México*, Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas **7** (2004), no. 2.
- [68] Honest Makamba, Jin Ho Kim, Kwanseop Lim, Nokyoung Park, and Jong Hoon Hahn, *Surface modification of poly (dimethylsiloxane) microchannels*, Electrophoresis **24** (2003), no. 21, 3607–3619.
- [69] Andres W Martinez, Scott T Phillips, Manish J Butte, and George M Whitesides, *Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays*, Angewandte Chemie International Edition **46** (2007), no. 8, 1318–1320.
- [70] Stephanie E McCalla and Anubhav Tripathi, *Microfluidic reactors for diagnostics applications*, Annual review of biomedical engineering **13** (2011), 321–343.
- [71] Tom McCreedy, *Fabrication techniques and materials commonly used for the production of microreactors and micro total analytical systems*, TrAC Trends in Analytical Chemistry **19** (2000), no. 6, 396–401.

- [72] J Cooper McDonald, David C Duffy, Janelle R Anderson, Daniel T Chiu, Hongkai Wu, Olivier JA Schueller, and George M Whitesides, *Fabrication of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane)*, *ELECTROPHORESIS: An International Journal* **21** (2000), no. 1, 27–40.
- [73] Virginie Mengeaud, Jacques Josserand, and Hubert H Girault, *Mixing processes in a zigzag microchannel: finite element simulations and optical study*, *Analytical chemistry* **74** (2002), no. 16, 4279–4286.
- [74] Philip W Miller, Nicholas J Long, Ramon Vilar, and Antony D Gee, *Synthesis of 11c, 18f, 15o, and 13n radiolabels for positron emission tomography*, *Angewandte Chemie International Edition* **47** (2008), no. 47, 8998–9033.
- [75] Miguel Moreno, Carmen Aracil, and José M Quero, *High-integrated microvalve for lab-on-chip biomedical applications*, *Biomedical Circuits and Systems Conference, 2008. BioCAS 2008. IEEE, IEEE, 2008*, pp. 313–316.
- [76] R Nakao, T Kida, and K Suzuki, *Factors affecting quality control of [18f] fdg injection: bacterial endotoxins test, aluminum ions test and hplc analysis for fdg and cidg*, *Applied radiation and isotopes* **62** (2005), no. 6, 889–895.
- [77] Ryuji Nakao, Takehito Ito, Masatoshi Yamaguchi, and Kazutoshi Suzuki, *Simultaneous analysis of fdg, cldg and kryptofix 2.2. 2 in [18f] fdg preparation by high-performance liquid chromatography with uv detection*, *Nuclear medicine and biology* **35** (2008), no. 2, 239–244.
- [78] Stoyan Nihtianov and Antonio Luque, *Smart sensors and mems: Intelligent sensing devices and microsystems for industrial applications*, Woodhead Publishing, 2018.
- [79] Giancarlo Pascali, Grazia Mazzone, Giuseppe Saccomanni, Clementina Manera, and Piero A Salvadori, *Microfluidic approach for fast labeling optimization and dose-on-demand implementation*, *Nuclear medicine and biology* **37** (2010), no. 5, 547–555.
- [80] Giancarlo Pascali, Giovanni Nannavecchia, Sabrina Pitzianti, and Piero A Salvadori, *Dose-on-demand of diverse 18f-fluorocholine derivatives through a two-step microfluidic approach*, *Nuclear medicine and biology* **38** (2011), no. 5, 637–644.
- [81] Giancarlo Pascali, Paul Watts, and Piero A Salvadori, *Microfluidics in radiopharmaceutical chemistry*, *Nuclear medicine and biology* **40** (2013), no. 6, 776–787.
- [82] M Patt, M Kuntzsch, and H-J Machulla, *Preparation of [18f] fluoromisonidazole by nucleophilic substitution on thp-protected precursor: yield dependence on reaction parameters*, *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry* **240** (1999), no. 3, 925–927.
- [83] Catherine M Pemble and Bruce C Towe, *A miniature shape memory alloy pinch valve*, *Sensors and Actuators A: Physical* **77** (1999), no. 2, 145–148.

- [84] Francisco Perdigones, Emilio Franco, Blas Salvador, Guadalupe Flores, and José Manuel Quero, *Highly integrable microfluidic impulsion system for precise displacement of liquids on lab on pcbs*, Journal of Microelectromechanical Systems **27** (2018), no. 3, 479–486.
- [85] Kangning Ren, Yin Chen, and Hongkai Wu, *New materials for microfluidics in biology*, Current opinion in biotechnology **25** (2014), 78–85.
- [86] Christian Rensch, Simon Lindner, Ruben Salvamoser, Stephanie Leidner, Christoph Böld, Victor Samper, David Taylor, Marko Baller, Stefan Riese, Peter Bartenstein, et al., *A solvent resistant lab-on-chip platform for radiochemistry applications*, Lab on a Chip **14** (2014), no. 14, 2556–2564.
- [87] B Salvador, D Escalante, L Fernández, A Corral, S Camacho, JM Quero, and A Luque, *Silicon photomultipliers for determining position of microfluidic radioactive samples*, 2018 Spanish Conference on Electron Devices (CDE), IEEE, 2018, pp. 1–4.
- [88] B Salvador, D Escalante, L Fernández-Maza, A Corral, S Camacho-León, and A Luque, *Monitoring of microfluidics systems for pet radiopharmaceutical synthesis using integrated silicon photomultipliers*, IEEE Sensors Journal **In press** (2019).
- [89] B Salvador, A Luque, JM Quero, L Fernández, A Corral, D Orta, and I Fernández, *Integrated anion-exchange cartridge for [18f] f-preconcentration in a pdms radiopharmacy chip*, 2017 Spanish Conference on Electron Devices (CDE), IEEE, 2017, pp. 1–4.
- [90] Blas Salvador, Emilio Franco, Francisco Perdigones, and José M Quero, *Fabrication process for inexpensive, biocompatible and transparent pcbs. application to a flow meter*, Microelectronic Engineering **173** (2017), 6–12.
- [91] Blas Salvador, Antonio Luque, Laura Fernandez-Maza, Ariadna Corral, Diana Orta, Isabel Fernández, and José Manuel Quero, *Disposable pdms chip with integrated [18f] fluoride pre-concentration cartridge for radiopharmaceuticals*, Journal of Microelectromechanical Systems **26** (2017), no. 6, 1442–1448.
- [92] Blas Salvador, Antonio Luque, and José M Quero, *Microfluidic capacitive tilt sensor using pcb-mems*, 2015 IEEE International Conference on Industrial Technology (ICIT), IEEE, 2015, pp. 3356–3360.
- [93] Florian Schneider, Jan Draheim, Robert Kamberger, and Ulrike Wallrabe, *Process and material properties of polydimethylsiloxane (pdms) for optical mems*, Sensors and Actuators A: Physical **151** (2009), no. 2, 95–99.
- [94] Lalitha K Shankar, John M Hoffman, Steve Bacharach, Michael M Graham, Joel Karp, Adriaan A Lammertsma, Steven Larson, David A Mankoff, Barry A Siegel, Annick Van den Abbeele, et al., *Consensus recommendations for the use of 18f-fdg pet as an indicator of therapeutic response in patients in national cancer institute trials*, Journal of Nuclear Medicine **47** (2006), no. 6, 1059–1066.

- [95] Huanhuan Shi, Kaixuan Nie, Bo Dong, Mengqiu Long, Hui Xu, and Zhengchun Liu, *Recent progress of microfluidic reactors for biomedical applications*, Chemical Engineering Journal (2018).
- [96] Narayan Sundararajan, Dongshin Kim, and Andrew A Berlin, *Microfluidic operations using deformable polymer membranes fabricated by single layer soft lithography*, Lab on a Chip **5** (2005), no. 3, 350–354.
- [97] Matthew P Taggart, Mark D Tarn, Mohammad MN Esfahani, Daniel M Schofield, Nathaniel J Brown, Stephen J Archibald, Tom Deakin, Nicole Pamme, and Lee F Thompson, *Development of radiodetection systems towards miniaturised quality control of pet and spect radiopharmaceuticals*, Lab on a Chip **16** (2016), no. 9, 1605–1616.
- [98] Ganghua Tang, Mingfang Wang, Xiaolan Tang, Manquan Gan, and Lei Luo, *Fully automated one-pot synthesis of [18f] fluoromisonidazole*, Nuclear medicine and biology **32** (2005), no. 5, 553–558.
- [99] Mark D Tarn, Giancarlo Pascali, Francesco De Leonardis, Paul Watts, Piero A Salvadori, and Nicole Pamme, *Purification of 2-[18f] fluoro-2-deoxy-d-glucose by on-chip solid-phase extraction*, Journal of Chromatography A **1280** (2013), 117–121.
- [100] Michel M Ter-Pogossian, *Positron emission tomography (pet)*, Three Dimensional Biomedical Imaging (1985), CRC Press, 2017, pp. 49–64.
- [101] Marc A Unger, Hou-Pu Chou, Todd Thorsen, Axel Scherer, and Stephen R Quake, *Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography*, Science **288** (2000), no. 5463, 113–116.
- [102] Maseeh Uz Zaman, Nosheen Fatima, Zafar Sajjad, Unaiza Zaman, Rabia Tahseen, and Areeba Zaman, *18fdg synthesis and supply: a journey from existing centralized to future decentralized models*, Asian Pac J Cancer Prev **15** (2014), 10057–9.
- [103] Adolfo Obaya Valdivia, Jesús López López, Yolanda Marina Vargas-Rodríguez, and Oyuki Camacho González, *Producción de radiofármacos para tomografía por emisión de positrones (pet) y su aplicación en el diagnóstico de diversas enfermedades*, Educación química **27** (2016), no. 4, 292–299.
- [104] G Velmathi, N Ramshanker, and S Mohan, *2d simulations and electro-thermal analysis of micro-heater designs using comsol tm for gas sensor applications*, COMSOL Conference I, 2010, pp. 2–5.
- [105] Zarah Walsh, Pavel A Levkin, Vijay Jain, Brett Paull, Frantisek Svec, and Mirek Macka, *Visible light initiated polymerization of styrenic monolithic stationary phases using 470 nm light emitting diode arrays*, Journal of separation science **33** (2010), no. 1, 61–66.

- [106] Jinbo Wu, Wenbin Cao, Weijia Wen, Donald Choy Chang, and Ping Sheng, *Polydimethylsiloxane microfluidic chip with integrated microheater and thermal sensor*, *Biomicrofluidics* **3** (2009), no. 1, 012005.
- [107] Q Xiang, B Xu, R Fu, and D Li, *Real time pcr on disposable pdms chip with a miniaturized thermal cyclers*, *Biomedical Microdevices* **7** (2005), no. 4, 273–279.
- [108] Bozhi Yang and Qiao Lin, *A latchable microvalve using phase change of paraffin wax*, *Sensors and Actuators A: Physical* **134** (2007), no. 1, 194–200.
- [109] Jianing Yang, Yingjie Liu, Cory B Rauch, Randall L Stevens, Robin H Liu, Ralf Lenigk, and Piotr Grodzinski, *High sensitivity pcr assay in plastic micro reactors*, *Lab on a Chip* **2** (2002), no. 4, 179–187.
- [110] S Yu, *Review of 18f-fdg synthesis and quality control*, *Biomedical imaging and intervention journal* **2** (2006), no. 4.
- [111] Bo Yuan, Yu Jin, Yi Sun, Dong Wang, Jiashu Sun, Zhuo Wang, Wei Zhang, and Xingyu Jiang, *A strategy for depositing different types of cells in three dimensions to mimic tubular structures in tissues*, *Advanced Materials* **24** (2012), no. 7, 890–896.
- [112] Ahmed Yusuf, Corrado Garlisi, and Giovanni Palmisano, *Overview on microfluidic reactors in photocatalysis: Applications of graphene derivatives*, *Catalysis Today* **315** (2018), 79–92.
- [113] A Zacheo, V Arima, G Pascali, PA Salvadori, A Zizzari, E Perrone, L De Marco, G Gigli, and R Rinaldi, *Radioactivity resistance evaluation of polymeric materials for application in radiopharmaceutical production at microscale*, *Microfluidics and nanofluidics* **11** (2011), no. 1, 35–44.
- [114] Xin Zhang, Fei Liu, Karla-Anne Knapp, Michael L Nickels, H Charles Manning, and Leon M Bellan, *A simple microfluidic platform for rapid and efficient production of the radiotracer [18 f] fallypride*, *Lab on a Chip* **18** (2018), no. 9, 1369–1377.
- [115] Jinwen Zhou, Amanda Vera Ellis, and Nicolas Hans Voelcker, *Recent developments in pdms surface modification for microfluidic devices*, *Electrophoresis* **31** (2010), no. 1, 2–16.
- [116] Xiaoxu Zhu, Qinghong Zhang, Yaogang Li, and Hongzhi Wang, *Facile crystallization control of laf 3/lapo 4: Ce, tb nanocrystals in a microfluidic reactor using microwave irradiation*, *Journal of Materials Chemistry* **20** (2010), no. 9, 1766–1771.
- [117] Steven S Zigler, Joseph C Matteo, and Thomas Mangner, *Method for multi-batch production of fdg*, May 18 2010, US Patent 7,718,436.

